ONDERZOEKINGEN

GEDAAN IN HET

PHYSIOLOGISCH LABORATORIUM

DER

RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT

VOORTGEZET EN UITGEGEVEN

DOOR

H. ZWAARDEMAKER

ZESDE REEKS

DEEL V

HARVARD UNIVERSITY
SCHOOL OF MEDICINE AND PUBLIC HEALTH
LIBRARY

C
4. Ah. 1822.1

UTRECHT
A. OOSTHOEK
1925

4.Ah.1872.1

Harvard Medical School

Bowditch Library

The Gift of

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/onderzoekingen_1925_part-5

ONDERZOEKINGEN
GEDAAN IN HET PHYSIOLOGISCH LABORATORIUM
DER RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT

ONDERZOEKINGEN

GEDAAN IN HET

PHYSIOLOGISCH LABORATORIUM

DER

RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT

VOORTGEZET EN UITGEGEVEN

DOOR

H. ZWAARDEMAKER

ZESDE REEKS

DEEL V

UTRECHT
A. OOSTHOEK
1925

HARVARD UNIVERSITY
SCHOOL OF MEDICINE AND PUBLIC HEALTH
LIBRARY
4. Ah. 1872.1
DR. WM. T. PORTER.

SEP 12 1928

INHOUD.

Bladz.

H. ZWAARDEMAKER, Is de Bioradioactiviteit oorzaak van een aantal automatismen? 1

H. ZWAARDEMAKER, La corpusculo-équivalence des dosages radiobiologiques une loi empirique (C. R. de la Soc. de biologie T. 88 p. 720, 1923) 3

H. ZWAARDEMAKER, Bioradioactivité et loi de l'entropie (C. R. de la Soc. de biologie T. 90 p. 68, 1924) 8

H. ZWAARDEMAKER et T. P. FEENSTRA, Pulsations du coeur de la grenouille sous l'influence de l'émanation après enlèvement du potassium diffusible (C. R. de la Soc. de biologie T. 90, p. 1145, 1924) 11

E. H. JANNINK, The influence of potassium in the intestinal movement, abstract of his Thesis Utrecht 20th Dec., 1921 13

J. G. DUSSER DE BARRENNE u. D. G. COHEN TERVAART, Unters. u. d. Beziehungen zwischen Innervation und Chemismus der quergestreiften Muskeln. 1e Mitt. ü. d. Kreatingehalt der Skelettmuskeln b. d. Enthirnungsstarre und anderen Formen von Hyperinnervation (Pflüger's Arch. Bd. 195, p. 370) 28

J. B. ZWAARDEMAKER, The presence of cardio-regulative nerves in Petromyzon fluviatilis (K. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, March 24, 1923) 53

J. B. ZWAARDEMAKER, Howell's theory of vagusinhibition examined on the regulating nerves of Petromyzon fluviatilis (XIth Intern. Physiol. Congress held in Edinburgh. July 23—27 1923) 58

J. G. DUSSER DE BARENNE and J. B. ZWAARDEMAKER, On the influence of the vagi on the action-currents of the diaphragm during respiration. (XIth Intern. Physiol. Congress, held in Edinburgh, July 23—27 1923) 60

H. ZWAARDEMAKER, Die Ka-Ca-Aequilibrierung in tierischen Systemen (Bioch. Zeitschr. Bd. 132 p. 95, 1922) . . . 61

Bladz.

H. ZWAARDEMAKER, Die Alpha-Automatien des Herzens (Skand. Arch. f. Physiol. Bd. 43, p. 287, 1923. Festschrift für R. Tigerstedt) 70

H. ZWAARDEMAKER, L'Action physiologique du potassium et du calcium (Communication faite à l'occasion du 75me anniversaire de la fondation de la Soc. de Biol. Séance du 27 mai 1923) 96

H. ZWAARDEMAKER u. S. OHMA, ü. Physiologische Schallmessung (Ztschr. f. Sinnesphysiologie Bd. 54, p. 79, 1922) . . 107

G. J. v. D. BOVENKAMP, Desensitization of the heart for beta-rays. (Abstract of his Thesis. Utrecht May 15th, 1923) 119

E. SMITS, Caesium and the heart (Abstract of his Thesis. Utrecht June 26th 1923) 136

JOH. N. VOORSTAD, Alpha-Rays and Heart-action (Abstract of his Thesis, Utrecht Oct. 16th 1923) 152

A. v. D. WILLIGEN, Calcium and Myogenic Heart-properties (Abstract of his Thesis, Utrecht April 29th 1924) . . . 170

M. J. E. M. STEYNS, The influence of Calcium on the power of the heart. (Abstract of his Thesis, Utrecht June 17th 1924) 189

IS DE BIORADIOACTIVITEIT OORZAAK VAN EEN AANTAL AUTOMATISMEN?

DOOR

H. ZWAARDEMAKER.

Voordracht op den Physiologendag te Amsterdam Dec. 1922.

Spreker geeft eerst een definitie van bioradioactiviteit. Hij verstaat daaronder de micro-radioactiviteit, die in de weefsels aanwezig is tengevolge van hun gehalte aan kalium. Het gaat slechts om geringe hoeveelheden, want men rekent op dit gebied met fracties van microcuries en aequivalenten. Ter demonstratie van de hoofdwerkingen der micro-radioactiviteit wordt een viertal krommen getoond (no. 1 herstel van hartfunctie, na onttrekking van het circulatiekalium, door emanatie; no. 2 id. door uitwendige bestraling uit polonium; no. 3 een evenwicht bij doorstrooming tusschen den invloed van kalium en die van uraan; no. 4 id. tusschen doorstrooming met kalium-**Ringer** en uitwendige bestraling met polonium). Dergelijke uitwerkingen ontmoet men bij een aantal automatieën, die van hart en vaten, die van de gladde musculatuur van het spijsverteringskanaal en van den uterus.

Zulke automatieën berusten waarschijnlijk op kringprocessen, die volgens conditioneele beschouwingswijze afhankelijk gesteld kunnen worden van een aantal voorwaarden. De physiologische functie blijkt derhalve een mathematische functie te zijn van *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, enz. Men kent vele van deze voorwaarden min of meer nauwkeurig. Opgesomd worden: de temperatuur, de hydrostatische druk, de osmotische druk, de H.-ionenconcentratie, de vrije zuurstof, het kaliumgehalte, het hormonengehalte. De laatste vijf geven een beeld van de samenstelling van het bloed, welks werking **Joh. Müller** als de oorzaak der automatieën opvatte. Is er nu onder de verschillende eigenschappen, waarin wij in nieuweren tijd den bloedfactor ontleden, één, aan welke men van causaal standpunt, den naam *oorzaak* zou willen geven? Dit hangt af van de vraag, of een der voorwaarden een domineerend, van alle andere voorwaarden onderscheiden karakter bezit.

Spreker ontwikkelt nu de volgende theorie. In zulke kringprocessen als aan de automatieën ten grondslag liggen, is het mogelijk te onderscheiden: 1^0. een bijkans omkeerbaar stuk, waarin haast geen

dissipatie van energie plaats heeft, 2^0. een beslist onomkeerbaar stuk, waarin een groote ontwikkeling van warmte. Het eerste, in abstracto afgezonderde gedeelte, identificeert hij met de electrische verschijnselen, die met onmeetbaar geringe warmteproductie verloopen en die daardoor aan den eisch: geen energiedissipatie, beantwoorden. Deze verschijnselen berusten op migratie van ionen van allerlei soort, doch waaronder vermoedelijk de hydroxylionen het belangrijkst zijn. Het colloidale milieu, waarin de migratie tot stand komt, geeft een zekere demping, waardoor zelfs het zoo goed als omkeerbare stuk na eenigen tijd tot rust zou moeten komen. De bioradioactiviteit voert gelukkigerwijs telkens een weinig nieuwe vrije energie aan, welke in de plaats treedt van de kleine hoeveelheden, die zich in de onmeetbaar kleine warmte-afgifte hebben verstrooid. Daardoor kan het telkens heen en weer gaan van de ana-katabolische evenwichtsreactie in stand blijven en komt het automatisme zoolang het leven duurt niet tot rust. De bioradioactiviteit stelt haar energie quanteus ter beschikking, normaliter in quanta van iets meer dan ¼ erg, bij doorstrooming met alphastralen in dertigmaal grootere quanta. Dit geschiedt op onregelmatige tijdstippen, in een kikvorschhart gemiddeld éénmaal per 4 secunde. Dit gemiddelde tempo beantwoordt soms aan den eigen rhythmus der systemen, maar toch is er geen onmiddellijk verband, want men kan het eigen rhythme wijzigen door met de temperatuur op en neer te gaan, terwijl het tempo der plaats hebbende explosies hetzelfde blijft. Naar spreker gelooft bedient de natuur zich van de microradioactiviteit van het kalium om aan een aantal automatismen een blijvend karakter te verleenen. De energiequanta, die daarbij gebezigd worden, zijn van dezelfde orde als die, welke onze zintuigen prikkelen. Het ongeregelde der explosies voorkomt een vitaal gewennen, dat bij werkelijk continueele inwerking van een prikkel te vreezen zou zijn.

Mag men van het standpunt dezer theorie de bioradioactiviteit *oorzaak* der automatismen heeten? Misschien wel, want als voorwaarde onderscheidt zij zich doordat zij energiebron is niet alleen, maar bovendien energiebron van volstrekte spontaniteit.

Spreker betwist niet, dat het van philosophisch gezichtspunt beschouwd voorzichtiger is het conditioneele standpunt te blijven innemen, maar wil men het rerum cognoscere causas nastreven, dan is onder alle voorwaarden, die de automatische verschijnselen doen tot stand komen, de bioradioactiviteit de eenige *autochtone* voorwaarde.

LA CORPUSCULO-EQUIVALENCE DES DOSAGES RADIO-BIOLOGIQUES UNE LOI EMPIRIQUE.

PAR

H. ZWAARDEMAKER.

Dans le résumé dejà publié de mon rapport, à faire le 26 mai prochain à la Soc. de biol., j'ai pris comme guide un calcul théorique [1]). Or, depuis que des milliers d'expériences ont été faites sur diverses espèces d'animaux et sur toute une série d'organes, il est possible d'abandonner la base théorique et de s'appuyer uniquement sur l'expérience.

C'est surtout au sujet du coeur des animaux poikilothermiques (Petromyzon, Anguilla, Rana, Testudo) que nos connaissances sont devenues vastes. Les doses de potassium, thorium, uranium et radium dans un liquide de perfusion de Ringer, entretenant les battements du coeur, variaient entre les limites ci-dessous:

Doses en milligrammes par litre:

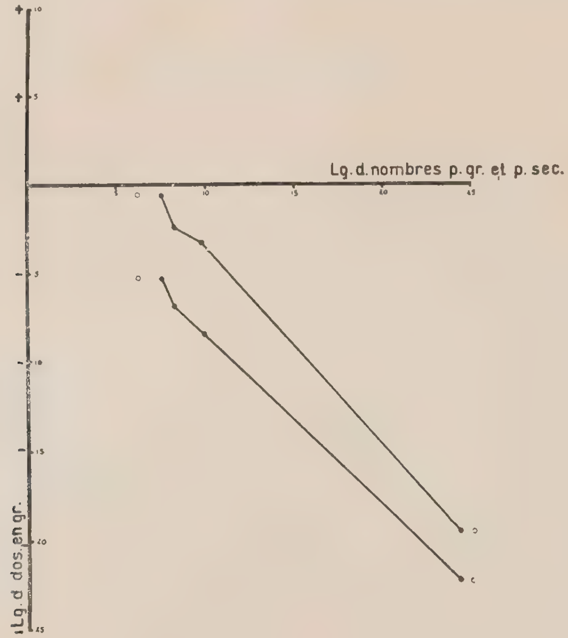
Potassium	5 a 500
Thorium	1 „ 75
Uranium	0.3 „ 30
Radium	$0.5.10^{-6}$ a 3.10^{-6}

Si l'on réunit ces donnés dans un graphique logarithmique, en portant en abscisses les nombres de particules émises par l'élément radioactif, par gramme et par seconde, pour donner la mesure

---

[1]) Un tel calcul donne des valeurs un peu differéntes suivant la voie suivie. On pourrait choisir un tout autre raisonnement, par exemple A. 1 gr. de radium pur émet par sec. $3.4.10^{10}$ particules alpha; chacune de ces particules a une enérgie de 1.10^{-5} erg; toutes les particules alpha ensemble ont donc $3.3.10^{5}$ ergs par gr. et par sec. *B.* 1 gr. de radium en équilibre avec ses produits émet 50.10^{10} particules bêta; 1 gr. de potassium en rayonne les 4 milliardièmes ou 2000; chaque particule bêta du potassium a une enérgie de $2.75.10^{-7}$ ergs, de sorte que les 2000 particules ont ensemble $5.5.10^{-4}$ ergs par gr. et par sec. *C.* Il résulte de *A* et *B* que energétiquement parlant le rayonnement alpha du radium est 6.10^{8} fois plus intense que le rayonnement bêta du radium, et de la dédoute à son tour que 0.1 micromilligramme de radium environ est radioéquivalent à 50 mgr. de potassium. *D.* Si l'on tient encore compte des chances de recontre la dose de radium nécessaire est 0.5 micromilligrammes.

de l'énergie de rayonnement de la substance employée, et en ordonnées les doses en grammes par litre — ces nombres et ces doses étant exprimés par leurs logarithmiques népériens —, on obtient la figure ci-jointe.



En absisses: nombres de particules par gramme et par seconde:
pour K 2 000 particules
„ Th 4 500 „ (Rutherford, Marx Handb. II p. 495).
„ U 24 000 „ (ibid. p. 398).
„ Ra $3.4.10^{10}$ „ (ibid. p. 117).

En ordonnées: doses en grammes par litre. Le tout en logarithmes naturels.

N.B. Les deux ronds à gauches indiquent les doses limites du potassium dans le cas où l'on évaluerait à 500 et non 2000 le nombre de particules émises par sec. par gr. de potassium et les deux ronds à droite les doses limites du potassium au cas où l'on comprend dans le nombre des particules non seulement le rayonnement alpha du radium pur, mais aussi le rayonnement bêta de ce radium.

Pour le radium nous n'avons tenu compte, provisoirement, que

du rayonnement alpha du radium pur. Le rayonnement bêta, qui se produit en même temps füt négligé pour le moment.

Si nous joignons les doses minima par une ligne et de même les doses maxima, ces deux lignes comprennent entre elles les logarithmes naturels de toutes les doses qui ont entretenu les battements du coeur pendant un temps assez long, disons une heure. Les doses dites d'été sont voisines de limites inférieures; les doses d'hiver sont situées plus haut.

On voit immédiatement que la bande intermédiaire est droite. On doit en conclure que globalement les concentrations utiles ont été telles que dans tous les liquides nourriciers reconnus comme efficaces jusqu' ici, la substance radio-active doit avoir émis le même nombre de particules à peu près. En effet, la dose peut être réduite dans le rapport dans lequel le pouvoir émissif est plus grand. L'inclinaison de la bande est d'environ 45°. La loi empirique qui découle de la figure peut donc s'énoncer comme suit: La concentration en milligrammes multipliée par le nombre de particules par gr. et par sec. donne un produit constant[1]).

Le graphique fait connaître les concentrations dans les flacons de réserve et dans le liquide qui remplit les lacunes. Dans les cellules et contre elles cette concentration est probablement tout à fait différente. Au sujet du potassium nous savons qu'il peut pénétrer dans la cellule et que les cellules musculaires en contiennent une grande provision; il est d'ailleurs probable qu'il est adsorbé. Les ions des éléments radio-actifs lourds sont probablement adsorbés, au gel des fibrilles, ainsi que cela a été démontré directement pour un autre adsorbant, le noir animal. Il est possible que la concentration de K et aussi celle des éleménts lourds dans les cellules soit beaucoup plus grande que dans le liquide lacunaire. Nous ne connaissons pas la grandeur des différences. Elles sont sans doute les plus faibles aux concentrations les plus élevées.

Si nous prenons donc ces concentrations les plus élevées comme mesure, nous pouvons calculer le nombre de particules qui sont émises p. sec relativement et approximativement, *à l'intérieur de l'organe* dans un espace déterminé, 1 cm^3. par exemple.

Nombre de particules émises, à l'intérieur de l'organe par cm^3.

---

[1]) La bande reste droite lorsqu'on suit, pour le calcul global du nombre des particules émises par un gramme de potassium, le raisonnement de Rutherford: l'activité du potassium est 1.000 fois plus faible que celle du rayonnement bêta de l'uranium, et celle-ci à son tour est un million de fois plus faible que l'activité du rayonnement bêta du radium (voir la fig.).

pour K	1	p. sec.
„ Th	0.34	„ „
„ U	0.72	„ „
„ Ra	0.1	„ „

Chaque particule porte une certaine quantité d'énergie, savoir: une particule bêta de K (vitesse 2.10^{10} cm. environ) $2.75.10^{-7}$ ergs

„ „	alpha	Th	$0.7\ .10^{-5}$ „
„ „	„	U	$0.64.10^{-5}$ „
„ „	„	Ra	$1.\ \ 10^{-5}$ „

En rapportant ces nombres aux doses maxima admissibles, nous arrivons aux valeurs suivantes en 10^{-7} ergs par sec.: pour K 3, pour Th 23, pour U 46, pour Ra 10. La transmission de cette énergie se fait par quanta, conformément à l'avant dernier tableau.

Les dosages ont été faits avec le plus d'exactitude pour le potassium et l'uranium. or, le potassium émet en moyenne une fois par seconde un quantum, et l'uranium deux fois en trois secondes. Je me figure que les excitations, produites à des intervalles irréguliers et qui, parce que les particules sont chargées, ressemblent à des secousses électriques, s'additionneant dans les cellules[1]). Sans ces excitations, venant à des instants irréguliers, les processus alternatifs d'anabolisme et de catabolisme devraient s'éteindre peu à peu, conformément à la loi de l'entropie. Mais maintenant ils peuvent continuer pendant toute la durée de la vie et à ce point de vue la radio-activité pourrait être considérée comme la cause de la spontanéité de l'automatisme.

Nous rencontrons donc deux lois: 1° une loi théorique d'aequi-radio-activité énergétique, prise avec succès comme guide dans les recherches; 2° une loi empirique de corpusculo-équivalence des doses, déduite des observations. Ces deux lois, l'une théorique, l'autre empirique, sont identiques pour ce qui regarde le thorium et l'uranium, pour le radium, il règne encore beaucoup d'incertitude, à cause de l'existence, même dans le radium pur, d'un rayonnement

---

[1]) Il est à peu près certain que le nombre d'excitations est en réalité beaucoup plus grand que nous venons de l'évaluer, car dans le corps humain pris dans son ensemble, 40 gr. de potassium émettent p. sec. 80 000 particules, soit 1 à 2 p. sec. et par cm^3. Tenant compte en outre de la forte accumulation de potassium dans les cellules musculaires et dans le coeur, on trouve que dans le cas considéré dans le texte le nombre de particules se rapproche probablement de 10 p. sec. Chacune de ces particules porte comme quantum une quantité d'énergie suffisante pour exciter un de nos organes sensoriels les plus élevés (oeil, oreille).

simultané de particules alpha et bêta; pour le potassium les deux lois sont distinctes. L'explication en peut être cherchée soit dans l'appui fourni par un dépôt de potassium dans les cellules, soit dans une complication résultante d'une adsorption à la surface de la cellule.

BIORADIOACTIVITÉ ET LOI DE L'ENTROPIE

PAR

H. ZWAARDEMAKER.

Il se produit dans l'organisme un grand nombre de processus qui continuent jour et nuit, et à la base desquels se trouvent, selon toute probabilité, des processus en cycle fermé; tels sont les automatismes du coeur et de la respiration, les rétrécissements et élargissements automatiques des vaisseaux sanguins, la prédisposition des voies nerveuses et des synapses à conduire les excitations qui se présentent, etc. A chaque milliseconde (nerf), à chaque seconde (coeur), à chaque minute peut-etre (vaisseaux sanguins) les mêmes états se reproduisent. Les oscillations autour de cet état d'équilibre semblent former un perpétuum mobile pour la durée de la vie. Cela paraît être en désaccord avec la loi de l'entropie, qui n'admet pas de mouvement perpétuel, parce qu'il y a toujours de l'énergie qui se dissippe, de sorte que les processus en cycle fermé ne sont jamais parfaitement réversibles. L'énergie libre qui entretient ces processus doit diminuer peu à peu et la fluctuation doit nécessairement cesser. Et cependant elle continue toujours, pourquoi?

On pourrait croire que la présence d'oxygène de l'atmosphère ou de l'eau fournit l'occasion d'un renouvellement de l'énergie libre, lorsque toutes les cellules contiennent des catalyseurs qui rendent possibles des processus d'oxydation. Mais dans la chimie théorique la catalyse n'est qu'une representation mathématique: d'augmentation ou de diminution des constantes de vitesse de la reaction et, lorsqu'on essaiet d'y rattacher des représentations plus intuitives, qu'on invoque des adsorptions ou des réactions intermédiaires, on trouve que la catalyse à son tour a besoin d'un nouvel apport d'énergie libre, qu'elle ne peut pas emprunter à l'oxygène, parce que celui-ci ne peut pas encore entrer en réaction à cet instant primaire, avec les substances oxydables contenues dans les cellules. L'énigme du mouvement perpétuel n'est donc pas résolu par l'hypothèse des catalyseurs.

La lumière ne peut pas non plus être invoquée pour expliquer

les automatismes de la vie animale, car ces automatismes continuent sans interruption pendant la nuit, et l'on ne connaît pas de substances accumulant l'énergie rayonnante pour une durée qui paraît être indéfinie.

C'est pourquoi j'ai essaye d'attribuer ce rôle à l'énergie corpuscullaire de la teneur obligatoire en potassium des tissus. Le potassium contenu dans le corps humain met à notre disposition une quantité d'énergie libre nouvelle de 0,02 ergs par sec.; la quantité d'énergie ainsi développée dans un petit organe comme la coeur d'une grenouille est de 247 microergs. par heure, soit 0,006 erg par jour. Cette quantité est trop petite pour qu'on puisse lui reconnaître un effet, à moins qu'on ne parvienne à isoler des processus cycliques dont il s'agit, et qui, dans leur ensemble, sont très irréversibles, une partie qui est *presque* réversible, et que l'on se représente comme soumise directement au contrôle de la bioradioactivité.

Cet isolément d'une partie presque réversible de l'ensemble d'un processus en cycle fermé est une opération que l'on a souvent faite en thermodynamique, et je pense que pour les processus physiologiques aussi elle est possible, si l'on se borne aux processus purement électriques qui accompagnent les automatismes. Je me permets de citer comme tels:

a: les phénomènes électriques du coeur;

b: les processus électriques cycliques dans les nerfs et probablement dans les synapses;

c: les phénomènes électriques dans les muscles lisses des artéres, des intestins et de l'utérus, phénomènes qui, par la lenteur avec laquelle ils se produisent, deviennent presque imperceptibles [2]).

Dans ces processus cycliques électriques aussi il se produit une certaine dissipation de l'énergie, mais celle-ci est si faible qu'elle échappe à l'observation dans le muscle strié (début de la période initiale de Hill) et dans le nerf. Néanmoins, la perte d'énergie libre qui en résulte doit être compensée pour revenir au point de départ. Peut-être la radioactivité du potassium est-elle la source

---

[1]) Livre jubilaire de la société de biologie, 27 Mai 1923. A la ligne 17 au bas de la page 23, au lieu de „réaliserait" on doit lire „ferait aboutir".

[2]) Je suis tenté d'y ajouter les glandes à secrétion permanente, comme les reins, me basant pour cela sur les expériences, antérieurement citées de Hamburger, BRINKMAN et DE WAARD; je ne parlerai, toutefois, pas de ce système.

qui fournit l'énergie manquante.

Ce qu'il y a de remarquable dans la nature de cette source d'énergie excessivement faible, et qui fait qu'elle n'a pas de pareille (sauf dans les substituants, dans des conditions artificielles), c'est l'irrégularité de rythme dans lequel quanta de $2{,}75{,}10^{-7}$ ergs sont lancés dans les systèmes physiologiques. Peut-être la nature prévient-elle par là l'accoutumance à l'excitation comme phénomène vital, au point que même les démons de Maxwell ne sont pas capables de s'y adapter.

PULSATIONS DU COEUR DE PETROMYZON ET DE LA GRENOUILLE SOUS L'INFLUENCE DE L'ÉMANATION APRÈS ENLÈVEMENT DU POTASSIUM DIFFUSIBLE

PAR

H. ZWAARDEMAKER ET T. P. FEENSTRA.

On a vu, dans une communication précédente [1]), que la règle de LOEB du balancement des ions n'est pas applicable au rapport entre *Na, Ca, Em* (l'émanation remplaçant *K*).

On a constaté récemment [2]) que dans ce cas le rapport doit être exprimé par la formule:

$$\text{Emanation} \times \text{calcuim} = \text{constante.}$$

Pour l'émanation aussi bien que pour le calcium il existe une quantité limite pour laquelle les pulsations sont encore possibles, savoir 1/300 microcurie pour l'émanation, 2 mgr. par litre pour le calcium.

Ici encore l'examen porta principalement sur des coeurs de grenouille, qui furent perfusés artificiellement suivant la méthode de KRONECKER. Ces expériences ont été répétées plus tard et étendues au coeur de *Petromyzon fluviatilis* in situ, perfusé à partir de la veine cave.

Pour éviter, durant les expériences, une fuite de l'émanation gazeuse du liquide de perfusion, ou appliqua l'artifice de STEYNS, qui consiste à séparer l'air pénétrant dans le flacon de Mariotte du liquide au moyen d'un condom. Comme étalon de producteur d'émanation on se servit d'une solution de bromure de radium à 1 : 1000000, conservée pendant un mois dans des flacons de verre de 100 cm³., qui furent évacués de temps en temps au moyen d'une pompe pneumatique à vide élevé. Le gaz émanation ainsi obtenu fut recueuilli en concentration déterminée dans une solution de RINGER. C'est ainsi que furent cherchées les doses minimum et maximum d'émanation, pour lesquelles le coeur perfusé pouvait battre d'une façon tout à fait régulière pendant un quart d'heure. Une teneur de 50 à 200 mgr. de chlorure de calcium sec était con-

---

[1]) C. R. de la Soc. de Biologie. 84m 377, 1921.

[2]) Versl. Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, 29 mars 1924.

sidérée come la zône physiologique de la quantité de calcium.

Calcium en mgr. par litre	Concentration de l'Emanation en microcuries par litre. minimum (emp.)	maximum (emp.)
50	0.0036	2
100	36	0.7
150	36	0.5
200	36	0.36
250	36	0.25

Les doses extrêmes par litre de liquide de perfusion, admissible pour un coeur de grenouille ou de Petromyzon, sont fort éloignées l'une de l'autre dans la zône physiologique, une particularité que l'on observe aussi pour l'ion de potassium et l'ion de rubidium. On peut donc, pour cette raison, considérer l'émanation comme le substituant le plus idéal du potassium.

Pour les autres substituants du potassium les ions d'uranium (uranyle), le thorium et l'ionium ces doses extrêmes sont beaucoup plus rapprochées.

Les contractions aussi bien que l'électrocardiogramme sont tout à fait normaux pour le coeur traité à l'émanation et parfaitement réguliers du moins au début. A la longue il peut se présenter des modifications, telles qu'une extension de la systole, une plus grande distance entre les sommets de l'électrocardiogramme R et T, de légères contractures, qui sont probablement liées à l'absence d'une action tonolytique de l'ion de potassium qui est presque complètement enlevé par lavage.

Il se peut aussi qu'au bout d'un certain temps l'émanation ait d'autres effets encore, analogues à ceux que des solutions de même concentration que celles que nous avons employées dans nos épreuves, exercent sur le caoutchouc des condoms. Ces modifications (dans le coeur diminution de l'extensibilité du muscle cardiaque), ne se manifestaient toutefois nettement qu'après des intervalles de temps de l'ordre d'une heure. Avant ce temps l'automatisme sous l'influence de l'émanation ne se distinguait pas de celui sous l'influence du potassium [1]).

[1]) Dans les cas d'un passage brusque à une solution de Ringer à potassium le paradoxe radiophysiologique (Versl. Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, 24 fevr. 1917) se montre dans le cas d'un automatisme par l'émanation, se distinguant ainsi d'un automatisme par le potassium.

THE INFLUENCE OF POTASSIUM ON THE INTESTINAL MOVEMENTS.

by E. H. JANNINK.

(abstract of his Thesis, Utrecht 1921).

The object of this research was to repeat former experiments with potassium which had been performed before Le Heux and Magnus discovered that a gut gives off cholin during perfusion which animates the intestinal movements, so that in the presence of this hormone small traces of potassium are able to maintain the contractions of a piece of surviving gut. New experiments, in which the potassium already present in the heart as well as the cholin were both entirely washed out were therefore necessary.

Mode of Experimenting: The animals were of different sizes and were not fed in any special way. The rabbits were killed by bleeding to death and the cats, at first, by an aether-anaesthetic, later on also by bleeding. Subsequently the bloodvessels of the intestines were washed out by injecting RINGER into the AORTA or the A. mesenter: sup. The gut was separated from the mesenterium and immediately placed in the perfusing fluid at 38^0 C., after which the lumen was washed out with the same fluid by means of a syringe.

A portion of the intestines were often kept until the next day in the same fluid in a refrigerator and proved to be almost as good as the fresh specimens. The piece of gut was 4 c.M. long, at one end a small loop of thin cotton was made, at the other a loose slip to fix it to the lever. The loop was slipped over a hook at the bottom of a wide glass tube 3 c.M. in diameter, which contained 70 c.C. of water. At the botton of the glass tube was a small inlet through which O_2 bubbled into the fluid. For rabbits and mice we used Tyrode without potassium or glucose, for cats Ringer. We tested all the ingredients of the fluids for potassium by means of the reagents of De BOUSSER [1])—de KONINCK [2]) and also according to the method of HOWELL and DUKE [3]). — TISSUE fluid was

---

1) Bousser Journ: Am: Ch.: Soc.: 1910. P. 78. 1912. P. 1567.
2) De Koninck Zeit: F. Analyt. Chem. Bd. 20. S. 390. 1881
3) Howell and Duke. Amer. 7. of Physiol. Vol. 21 P. 60. 1909.

also examined now again, after-having been pressed out by means of small metal presses carefully cleaned.

C h a p t e r s IIIa a n d IIIb.

Several preparatory experiments were done to ascertain the following facts.

1. whether the gut of a rabbit, respectively of a cat showed any automatism when every trace of potassium was removed from the perfusing fluid.

2. which method was the best for washing out as much as possible of the potassium from the tissues.

3. whether the tissues of the outer longitudinal muscle layer retained the potassium less firmly than the inner layer, or than a gut with its whole muscular wall.

4. whether and in what degree the tissues give out potassium to the surrounding fluid.

Let us first state that we understood by automatism the spontaneous contractions made by a gut. The spontaneous appearance of tonus-variations which are constantly seen in the intestines, as changes in the length and width of the gut, must not be mistaken for contractions.

In the first experiments the gut continued to contract even after several hours, in which the fluid had constantly been changed. The question arose whether certain parts of the tissue retained potassium and gave this out to the fluid gradually. The epithelium was held to be the chief cause. Accordingly the epithelium of a portion of the gut which had been in potassium — free RINGER, constantly changed, for some time was scraped off and the potassium content determined. This appeared to be ± 170 mgr.: p. L., whereas the rest of the gut proved to have 180 mgr.: p. L. and the whole gut (epith: + muscle layer) 160—180 mgr. p. L. (all determined by pressing the fluid out of the tissues by means of a press and examining with the reagent of de BOUSSER — DE KONINCK). Very little difference between the tissues was found.

Later on, however, the experiments were done by permanently renewing the fluid round the gut, according to a method to be described later on in the experiments with mouse-guts; then the results obtained were far better, the removal of potassium from the tissues far more complete.

MAGNUS and COHNHEIM had already described that the isolated, longitudinal muscle layer of cats contracted spontaneously in a suitable fluid with plenty of oxygen at 38° C.

I repeated the experiments and found a difference according to the manner in which the animals had been killed. If they had been killed by a knock behind the ears no sign of automatism appeared. If, on the contrary, the cats had been subjected to an ether anaesthetic the same results Magnus had described were obtained.

With this longitudinal layer the results, as far as automatism were concerned, were fairly well the same as with the entire muscle. It was not possible to wash out all the potassium from the tissues by simply renewing the fluid; I could not see, however that the longitudinal muscle layer retained more potassium than the whole wall.

To discover whether a tissue actually gave out potassium to the surrounding fluid. I had to concentrate the fluid we had used for perfusing, as the quantities of potassium were too small to be able to make use of the reagent of de Koninck. I obtained a specially prepared quantity of NaCl which showed no reaction with de KONINCK, even when concentrated 50 times; I was therefore sure of the perfusing fluid. The fluid which had passed the gut was vaporized and the residue glowed on a platina dish, dissolved and further examined. Such exp. are performed best with pulsating hearts.

I found that during a perfusion of 70 min: the fluid contained 0,8 mgr. per L. In 80 min: 0,7 mgr. per L, and in 70 min: 0,9 mgr. per L. These experiments had been done with a heart which was contracting; they were repeated with some hearts which had ceased to beat for a considerable time. The result was that in approximately 60 min: 0,5 mgr: of potassium per L. were given off, a small difference evidently existing between a contracting heart and one which had ceased its movements. Subsequently a few experiments were done to see whether a heart which had been brought to a standstill through extraction of potassium and had been revived by mesothorium radiation perhaps gave off a different potassium content. Such a heart loses 0-64 mgr. of potassium per L. during 40 min. We see, therefore, that a heart gives off potassium under all circumstances, more in action than in rest and indifferent whether it is a spontaneous pulsation or called forth by radiation. We may accept that potassium is given out by the gut in more or less the same manner, for the smooth muscles are rich in potassium (according to Macallum) and must sacrifice a certain quantity when they are surrounded by a potassium — free solution. This fact is also proved by experiments of Mitchell and Wilson, who come to the conclusion

that $^1/_5$ of the potassium of a muscle is given off to the perfusing fluid in approximately one hour. The pulsating heart loses $1\frac{1}{2}$ times more than a heart at rest and a muscle which has been entirely exhausted almost twice as much as a muscle at rest.

Chapter IV.

Antagonism between potassium and uranium during permanent renewal of the fluid.

In trying to find an antagonism between potassium and uranium the same difficulty we encountered in the foregoing experiments was found: it proved impossible to bring the gut to a standstill without intoxicating it in some manner or entirely exhausting it. It was not until we made use of a discovery which ZWAARDEMAKER made by chance, that the guts could be brought to a „living" standstill. This was the addition of fluorescein to the perfusing fluid, which sensitized the tissue for the action of uranium, thorium, ionium and, slightly, also for potassium, so that smaller doses sufficed. When using fluorescein we could at last cause the contractions to cease as a result of an equilibrium between potassium and uranium rays.

On adding more uranium the equilibrium was passed and a new contraction started, this time due to uranium.

We were all constantly endeavouring to find a better method of renewing the fluid round the guts. DR. BENJAMINS with his experiments on frogs' oesophagi, and DR. DUSSER DE BARENNE had both seen the difficulties attached to experiments which were based on extraction of potassium from the tissues, especially with respect to oesophagi and guts. We at last succeeded in obtaining good results by making an overflow in the tube in which the gut was hanging and a separate intermediate reservoir, from which the fluid could flow into the small glass tube, which had the advantage of causing a continual flow through the gut and, moreover, made it unnecessary to allow oxygen to bubble through the fluid round the gut itself; we could also add different substances to the fluid without disturbing the gut.

Before we had found the best method of perfusing we experimented with mouseguts, later on with rabbits, the former proved only to be of use when no registration was required, as the action became very feeble when the resistance of a sooted drum was introduced into the system. The rabbits were far better as the contractions continued for a longer time and were far stronger. The later experiments were all photographically registered, which

did away with some of the difficulties, but there were still many to be encountered; for instance if slightly too much uranium was added the gut was so damaged that the automatism stopped entirely: 20 mgr. per L. (uranium nitrate) was the highest practicable dose, as a result of this difficulty we could seldom use the same piece

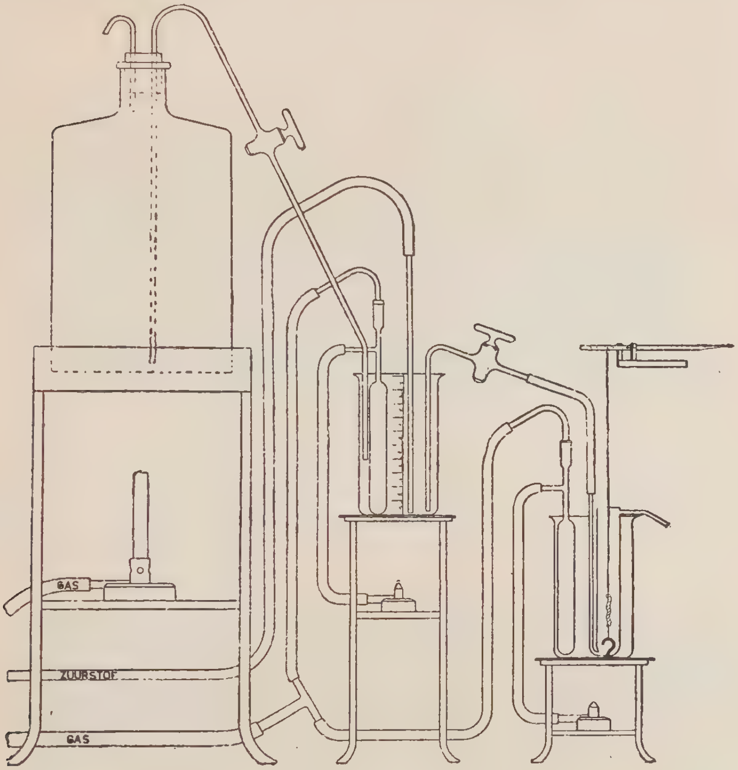


Fig. 1.

Sketch of the apparatus for permanent perfusion. On the left the large bottle which served as reservoir for the perfusing fluid. In the centre the intermediate reservoir, into which the oxygen tube opened and which is furnished with a thermo-regulator. On the right the water-bath with thermo-regulator, and resting in the bath the glass tube in which the gut was hanging, connected to the arm of the lever by a piece of cotton.

of gut for more than one stage of an experiment as the uranium had often damaged it before we knew the exact dosis needed in the particular case. We were also troubled by the paradoxal phenomenon, viy: that when changing from potassium to uranium in the perfusing

fluid without completely freeing the tissues of potassium by means of permanent perfusing, the automatism often slows down or stops

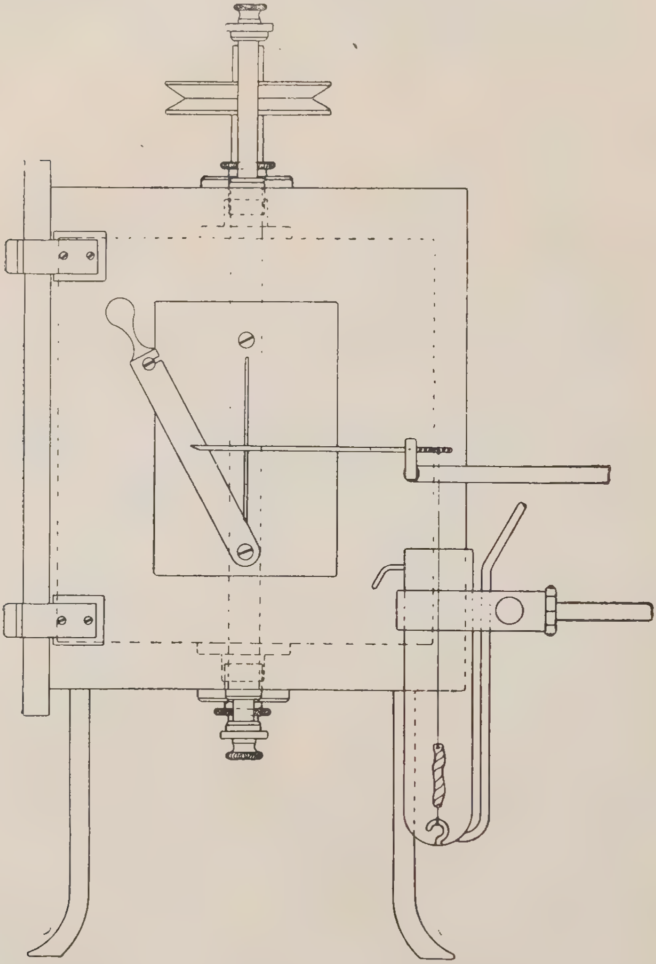


Fig. 2.

Sketch of the apparatus for photographic registration, seen from the front. In the centre the vertical cleft which can be covered with a plate. The lever which produces the shadow has been drawn horizontal, in front of the cleft. The sensitive paper has been stuck on a drum of 55 c.m. eircumference, which moves at a speed of approximately 1 c.m. per minute in the dark cupboard behind.

entirely; this is probably again due to the relationship between the potassium still remaining in the tissues, (which quantity can never

be correctly known), and the added uranium.

Sometimes this paradoxon is accompanied by a decrease in the tonus, which does not always manifest itself, however. If the phenomenon does not appear a slight intimation of its presence is seen, consisting in a temporary decrease in the size of the contractions, a decrease in the frequency, irregular rythm, and fluctuations in the tonus.

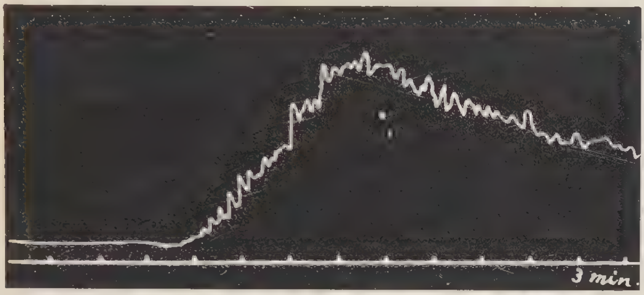


Fig. 3. Curve in soot.

Speed of drum = 1 c.M. per 3 min.
Under the influence of removal of potassium first immobility; on adding 200 mgr. of potassium per L. the automatism reappears, whith increase of tonus.

Fig. 4. Photographic curve.

The gut was in ihe usual condition of uranium perfusion, and showed regular contractions; at the arrow the uranium was changed for a potassium fluid of the same temperature. The contractions ceased and the tonus quickly disappeared within two minutes the intestine was in a flabby condition, quite motionless. Nine minutes later the contractions returned gradually, while the tonns was re-estahere were almost equaly high, frequent and regular.

Fig. 5. Soot curve.

To the left are uranium contractions. At the arrow the uranium fluid was substituted by a potassium-Ringer solution of the same temperature. Almost immediately the heart stood still in diastole. Three minutes later the contractions suddenly began afresh. These potassium contractions were, at first, higher than the uranium contractions, but soon descended to the ordinary level, with slight variations which perhaps depended on the friction of the lever. At the arrow on the right, marked with a U, the potassium Ringer was changed for a uranium-Ringer solution of the same temperature. The contractions suddenly became minimal, although the tonus remained more or less the same. Half a minute later the contractions gradually returned and soon reached the ordinary level. The uranium contractions before and after the paradoxes represented in this curve differed but slightly in frequency, height and regularity.

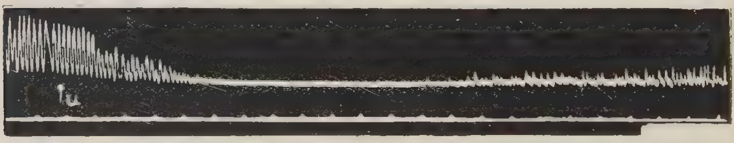


Fig. 6. Photographic curve.

To the left are potassium contractions. At the arrow the potassium fluid has been suddenly changed for a uranium solution of the same temperature. Half a minute later the contractions gradually begin to decrease in height and cease altogether after 4 min. This time a slight flabbiness appears. Nine minutes later the contractions gradually return, though the flabbiness at first remains urchanged. To the right uranium contractions.

Summary.

It took me some time to discover a suitable mode of bringing the gut to a standstill; if we simply renewed the surrounding fluid the gut continued to beat for hours with potassium-free RINGER, evidently

due to the choline and to a quantity of potassium still present in the cells. I made use, therefore, of the radio-physiological antagonism and tried to neutralize the potassium by addition of uranium. This failed. The uranylions were evidently not able to become adsorbed to the outer surface of the cells for some reason, and this condition had to be achieved at, for an ion in the middle of the fluid is not able to reach the muscle-cells with its particles. The addition of fluorescein immediately gave the desired effect; evindently the adsorption of the uranylion was made easier or more effectual, for the potassium action was entirely counteracted and a uranium pulsation manifested itself. This is probably due to the fact that the sensitizing action of fluorescein is stronger for uranium than for potassium. The possibility of a uranium automism for the gut had now really been demonstrated, but as the phenomenon had become rather complicated I desired to try and simplify the experiments and succeeded, after altering the technic according to the method described for the mouse-guts. In this manner a permanent renewal of the fluid was obtained and a complete extraction of potassium from the tissues so that fluorescein was no more necessary to sensitize the cells and a simple addition of uranium already gave a prompt revival. Thorium and even Emanation acted in the same way.

The temperature was kept very even (38^0) as it appeared to be of great influence on the tonus of the gut. To lower the temperature meant to increase the tonus, to raise it meant to decrease the tonus.

Addendum.

With an eye to the experiments of MAGNUS and LE HEUX on the stimulating action of cholin and especially of acetylcholin it seemed desirable to try whether my results were the same when these substances were added to the perfusing fluid. For without such an experiment some critics might say that a part of my results was due to the fact that cholin was washed out from the wall of the gut as well as the potassium. It is true the contractions revived by a perfusion with potassium, which would contradict such a supposition, but yet it seemed to me to be of value to repeat some of the experiments while keeping the cholin content constant and varying the potassium. This was achieved in the following way: A rabbit was killed by a blow in the neck; the blood from the vessels of the intestines was washed out by perfusing through the arteria mesenterica superior with potassium-free Tyrode, approximately a litre passing the arteries of that portion

of the gut I wished to use, sothat macroscopically all the blood had disappeared. A portion was cut out of this bloodless gut which proved to contract vigorously in potassium- free Tyrode. This piece was suspended in the glass tube, in such a manner that the ends were left open and the suspending bits of cotton attached to one side of the opening only. Subsequently the permanent perfusion was started with potassium- free Tyrode, to which was added 10 mgr. of cholin per L. I derived this cholin from a preparation named Enzytol, from the „Vereinigte chemische Werke in Charlottenburg" which contains a 10 % aqueous solution of boracic- acid-cholin. The temperature was kept accurately at 38° with the aid of two mercury thermo-regulators, of which one was placed in the intermediate reservoir and a second in the water-bath, containing the glass tube of 75 c.c. for the gut. The permanent perfusion took place with approximately 2½ L. per hour. When this had been continued for 3½ hours the contractions, which up to now had remained reasonably normal, suddenly ceased, (see, Fig. 7a). only small tremulations of the lever being visible, which could not be ascribed to oxygen bubbles as the oxygen tube had been fixed in the intermediate reservoir, but which might possibly be due to the vibrations of a motor in the building. At this moment 10 mgr. of potassium chloride per L. were added to the fluid. The perfusion with 10 mgr. of cholin and 100 mgr. of potassium was continued without interruption during the following hours. (see Fig. 7b). When 3½ hours had again passed a sudden renewal of the movements became visible, in a manner symmetrical to the reproductions in fig. 7c. This moment, however was not registered, only the following period having been photographed.

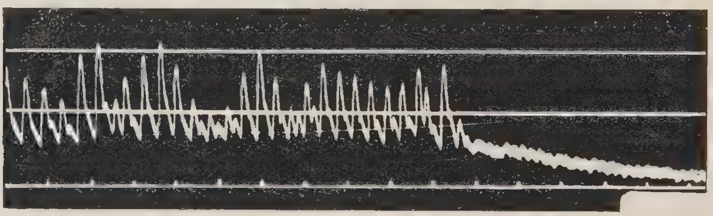


Fig. 7a. Photographic curve.
Cholin-gut, potassium contractions. The perfusion was done with potassium-free Tyrode, to which 10 mgr. of cholin had been added. Suddenly the contractions almost cease.

The contractions contiued uninterrupted. One and a half hour later another photo was taken, (see fig. d). The frequency which

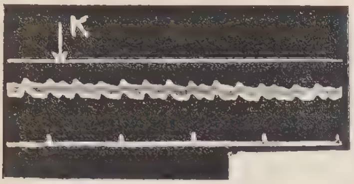


Fig. 7b.
Period of standstill on a Tyrode fluid without potassium, to which 10 mgr. of cholin per L have been added. At the arrow loo mgr. of potassium chloride are also added. For a long while, the heart remains almost motionless, the small vibrations must be due to traffic outside the building.

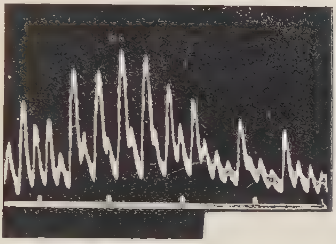


Fig. 7c.
As above. Revival of the potassium contractions.

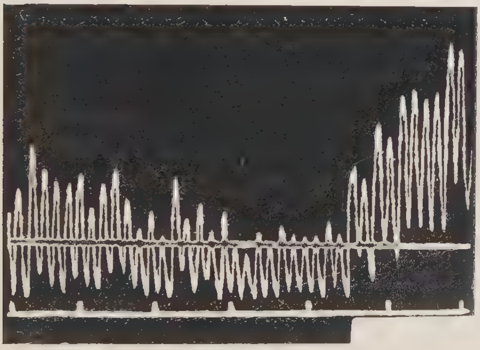


Fig. 7d.
As above $1^1/_2$ hour later.

just before the standstill was 3.8 per c.M., had risen to 6 per c.M. immediately after the revival. One and a half hours later the fre-

quency was still the same, but the contractions were higher and more regular.

During these experiments the cholin content of the perfusing fluid was kept constant, at 10 mgr. per L., and only the potassium content was varied. Without potassium the intestine comes to a standstill in 3½ hours; with potassium the gut revives, which also takes about 3½ hours. Standstill and revival appear suddenly.

Conclusions.

1) The intestine executes automatic movements in perfusion experiments, dependant on:
 a) temperature.
 b) presence of plenty of oxygen.
 c) properly balanced and buffered Ringer and Tyrode solutions.
 d) presence of cholin.
 e) presence of a radio-active ion.

2) If potassium is completely extracted from the organ the contractions stop, also when cholin is present.

3) This complete extraction is not obtained by simply renewing the fluid. Permanent perfusion of the glass, in which the gut is suspended, with potassium free Ringer is the only means of removing the potassium and bringing the contractions to a standstill.

4) The automatism brought to a standstill by means of extraction of potassium can be revived by suitable addition of uranium nitrate. The smallest adequate dose is ± 10 mgr. per L, the largest possible dose ± 20 mgr. per L.

5) When changing from uranium to potassium the regular contractions suddenly cease and a state of extreme flabbiness is observed, later on the contractions reappaer.

6) When changing from the potassium uranium-fluid one meets with the same phenomenon, which, however, is seldom very definite.

7) A substitute for this method of obtaining a paradox is the addition of fluorescein to the perfusing fluid. In this case a gut surrounded by inactive Tyrode solution comes to a standstill through the presence of uranylions, for the action of wich ions fluorescein is a sensitizor. By raising the uranium dose one obtains, in this case also, an automatism based upon uranium.

8) The necessity of a continous perfusion of the glass containing the gut is due to:

a) the obstinacy with which the tissue-fluid retains potassium, constantly renewed by the muscle cells themselves.

b) the presence of cholin which, probably sensitizes to the action of potassium.

Literature.

C. E. Benjamins. Ned. tijdsch. v. Gen. 1921. II. p. 776.

Birnbacher. Zeitsch. f. Biol. Technik und Methodik. Bd. III p. 302, 1915.

de Bousser. Journ. of Amer. Chem. Soc. 1910. p. 78, 1912, p. 1567.

Cohnheim. Zeitsch. f. Biol. Bd. 28. S. 419, 1899.

S. W. Clausen. Journ. Biol. Chem. V. 36. p. 479. 1918.

H. C. A. Detmar. Dissertatie Utrecht 1918.

T. P. Feenstra. Een nieuwe groep balanceerende atomen. Onderzoekingen Phys. Lab. Utrecht 5e reeks 17 p. 137, 140.

T. P. Feenstra. Tonus en Radioactiviteit. Nat. en Geneeskundig Congres. 1921. Utrecht.

H. Friedenthal. Arch. f. Anat. und Phys. S. 550. 1903.

I. Gunzburg. Werking van uraniumzouten op de kikvorschspier. Ned. Nat. en Geneesk. Congres, April 1917. p. 303.

I. Gunzburg. L'influence de l'uranium et du potassium sur la viscosité des liquides colloidaux. Arch. Neerl. de Phys. T. 4. p. 233. 1920.

Hedon en Fleig. Arch. int. de Phys. Vol. 3. p. 1. 1905.

J. W. le Heux. Versl. Akad. v. Wetensch. Wis- en Natuurk. afd. Sept. 1919.

J. W. le Heux. Pfl. Arch. Bd. 179. p. 177. 1920.

Howell and Duke. Amer. Journ. of Phys. Vol. 21. p. 60. 1909.

E. H. Janink en T. P. Feenstra. Ned. Tijdsch. voor Geneesk. 1920. II. No. 15.

W. H. Jolles. Onderzoekingen over den invloed van sommige physico- chemische en vitale voorwaarden op het electro-cardiogram van het overlevende kikkerhart. Onderzoek. Phys. Lab. Utrecht. 5e reeks. 18. p. I.

De Koninck. Zeitsch. F. anal. Chemie. Bd. 20. S. 390. 1881.

L. Kaiser. Les lignes d'équilibre de K, Rb et Cs avec U. Arch. neerl. de Phys. T. III. p. 587. 1919.

W. H. Levend. Over colloidaal ionim hydroxyde en hart-automatie. Diss. Utrecht. 1921.

A. Lohmann. Abderhalden's Handbuch. Bd. 6. S. 624.

Magnus. Pfl. Arch. Bd. 102. S. 123. 1904.

P. H. Mitchell and J. W. Wilson. Journ. of Gen. Physiol. Vol. 4. p. 45. 1921.

Rona und Neukirch. Pfl. Arch. Bd. 148. S. 273. 1912.

S. Ringer, Journ. of Physiol. Vol. 3. p. 380. 1882. Vol. 4. p. 29. 1883. Vol. 5. p. 122. 1883. Vol. 6. p. 361. 1884—1885. Vol. 7. p. 118. 1886. Vol. 18. p. 425. 1895.

T. Sakai. Zeit. f. Biol. Bd. 62. S. 295.

A. M. Streef. Diss. Utrecht. 1918. p. 34. Onderzoekingen Phys. Lab. 5.

M. V. Tyrode. Arch. intern. de Pharmacodyn. Vol. 20. p. 205.

W. Weiland. Pfl. Arch. Bd. 147. p. 171. 1912.

H. Zwaardemaker. Vervangbaarheid van het Kalium in de z.g. Ringersche vloeistoffen door radium in aequiradioactive hoeveelheid. Onder. Phys. Lab. Utrecht. 5e reeks 17. p. 153.

H. Zwaardemaker. Zittingverslag. Kon. Akad. v. Wetenschap A'dam. (30-9-'16). 25 p. 517.

H. Zwaardemaker, Benjamins en Feenstra. Radiumbestraling en hartswerking. Onder. Phys. Lab. Utrecht. 5e reeks 17. blz. 247. Ned. Tijdschrift v. Geneesk. 1917. II. p. 1923.

H. Zwaardemaker en J, Lely. Les sels et le rayonnement radioactifs modifiant la sensibilité du coeur à l'influence du nerf vague. Id: p. 442. Arch. Neerl. de Physiol. I. p. 745. 1917.

H. Zwaardemaker. Kalium- Uranium antagonisme naast overeenkomst in werking elk afzonderlijk. Zittingverslag. Kon. Akad. v. Wetensch. 24 Febr. 1917. Deel 25. p. 1096.

H. Zwaardemaker. Distance relations in the effect of radium radiation on the isolated heart. Id. p. 476.

Idem. On the behaviour of the uranium- heart towards electric stimulation as investigated bij M. den Boer. Proc. Kon. Akad. v. Wetensch. A'dam. Vol. 20. p. 189. 1917. Over de beteekenis der radioactiviteit in het dierlijk leven. Geneeskundige bladen, 20e reeks, No. IX/X. De verschuiving der radioactieve evenwichten onder den invloed van fluorescein. Zittingsverslag. Kon. Akad. v. Wetensch. 29 Sept. 1917, Deel 26, p. 554. Ueber die restaurierende Wirkung der Radiumbestrahlung auf das durch Kaliumentziehung in seiner Funktion beeinträchtigte Herz. Arch. f. d. ges. Physiol. 169 p. 122. 1917. Radioactieve evenwichten Ned. T. v. G. 1918, deel I p. 602. Caesiumion en hartswerking. Zittingsverslag Kon. Akad. v. We-

tensch. Deel 26, p. 776. Een hartparadoxon. Ned. Nat. en Gen. Congres, April 1917. p. 316.

H. Zwaardemaker en G. Grijns: Arch. néerl. de Physiol. II, p. 500. Sur l'action du polonium sur le coeur de grenouille immobilisé par la solution de Ringer privée de potassium.

H. Zwaardemaker: Aequiradioactivity. Am. Journ. of physiol. vol. XLV. p. 147. 1918.

H. Zwaardemaker: Kalium en Hartautomatie, Ibid. p. 421. Ned. T. v. G. I. 1918. p. 1174. Die Bedeutung des Kaliums im Organismus. Pflüger's Arch. Bnd. 173, p. 29, 1918.

S. de Boer, le liquide de perfusion de coeurs de grenouilles d'été.

H. Zwaardemaker: Dierlijke electriciteit en dierlijke radioactiviteit. Voordr. Gen. Nat. Gen. en Heelk. A'dam 29 Oct. 1918.

H. Zwaardemaker: Radioantagonisme et balancement des ions. C. R. Soc. De Biol. T. 82. p. 625.

H. Zwaardemaker: Radioactivité et vie. Arch. néerl. de Physiol. T. IV. p. 177.

H. Zwaardemaker: Over physiologische radioactiviteit. Hand. Nat. en Gen. Congres Leiden 1919.

H. Zwaardemaker: On physiological radioactivity. Journ. of Physiol. Vol. 53. p. 273.

H. Zwaardemaker: Sensibilisatie voor radioactiviteit door hormonen. Zitt. versl. Kon. Akad. v. Wetensch. 25 September 1920.

H. Zwaardemaker en T. P. Feenstra: Substition de Potassium par l'émanation de Radium dans le liquide de Sidney Ringer. C. R. Soc. Biol. T. 84. 1921, p. 377.

H. Zwaardemaker: La technique de l'étude de la radioactivité physiologique. Arch. néerl. de Physiol. t. 5. p. 285, 1921.

H. Zwaardemaker: De wet der aequiradioactiviteit en sensibilisatie. Prov. Utr. Gen. v. K. en W. 1921.

H. Zwaardemaker: The replacement of potassium by uranium in perfusion of the heart. Journ. of Physiol. vol. 55. p. 33. 1921.

H. Zwaardemaker: Le paradoxe radiophysiologique. C. R. Soc. de Biologie. T. 84. p. 704. 1921.

H. Zwaardemaker: Ueber die Bedeutung der Radioactivität für das tierische Leben. Ergebn. d. Physiologie Bnd. XIX, p. 327, 1921.

UNTERSUCHUNGEN UEBER DIE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN INNERVATION UND CHEMISMUS DER QUERGESTREIFTEN MUSKELN.

I. Mitteilung [1]).

Ueber den Kreatingehalt der Skelettmuskeln bei der Enthirnungsstarre und anderen Formen von Hyperinnervation.

VON

J. G. DUSSER DE BARENNE und D. G. COHEN TERVAERT.

Einleitung.

Die Untersuchungen von BOEKE [2]) haben dargetan, dass die quergestreiften Körpermuskeln ausser von den gewöhnlichen cerebrospinalen motorischen Nervenfasern und Endplatten noch innerviert werden von dünnen, marklosen Nervenfasern und Endplatten. Die experimentell-anatomischen Untersuchungen von BOEKE und dem einen von uns [3]) sowie von AGDUHR [4]) haben bewiesen, was allerdings schon aus BOEKES Angaben wahrscheinlich war, dass diese zweite, „akzessorische" Innervation eine *autonome* ist; für die Intercostal- und Extremitätenmuskeln ist durch diese Untersuchungen sichergestellt, dass die akzessorischen Nervenfasern und Endplatten dieser Muskeln *postganglionäre* Neurone sind, deren Perikarya im Grenzstrang des Sympathicus liegen.

Nach Durchschneidung der vorderen Wurzeln und Exstirpation der korrespondierenden Spinalganglien und nach Degeneration aller cerebrospinalen motorischen und sensiblen Apparate findet

---

1) Siehe Pflüger's Arch. Bd. 195 p. 370. Der Inhalt der ersten 2 Mitteilungen dieser Reihe wurde mitgeteilt in der Sitzung der Sektion für Medizin des XVIII. „Nederlandsch Natuur- en Geneeskundig Congres" zu Utrecht am 1. April 1921; siehe Verhandlungen dieses Kongresses, 1921, S. 130. (Haarlem, Kleijnenberg.)

2) Für die betreffende Literatur sei hingewiesen auf: Nervenregeneration und anverwandte Innervationsprobleme von J. Boeke, Ergebn. d. Physiol. **19**, 448. 1921.

3) J. Boeke und J. G. Dusser de Barenne, The sympathetic innervation of the cross-striated muscle fibres of vertebrates. Proc. roy. Acad. of Amsterdam **21**, 1227. 1919.

4) E. Agduhr, Are the cross-striated muscle fibres of the extremities also innervated sympathetically? Proc. roy. Acad. Amsterdam **21**, 1231. 1919.

man in den betreffenden Nerven und Muskeln die BOEKEschen akzessorischen Nervenfasern und Endplatten in „Reinkultur" erhalten [1]).

Die akzessorischen nervösen Apparate der genannten Muskeln sind somit *zentrifugalleitende* Apparate. Welche ist ihre Funktion? ist die noch immer nicht gelöste Frage. Während der letzten 2 Jahre haben wir uns wieder eingehend mit dieser Frage beschäftigt.

Der Ansicht DE BOERS [2]), nach der der Tonus der quergestreiften Muskeln vom autonomen Nervensystem beherrscht sein sollte, können wir auch bei weiterer experimenteller Erfahrung nicht beistimmen.

Bei unseren zahlreichen Exstirpationen des Bauchstranges am Warmbluter der letzten Jahre, die alle fast ohne einen Tropfen Blut zu verlieren, sehr glatt verliefen, haben wir fast niemals, auch nicht im akuten Versuch, die geringste Spur einer Tonusabnahme in den Muskeln der betreffenden Hinterpfote auffinden können. Aus diesen Versuchergebnissen geht hervor, dass *die Fortnahme des Sympathicus in vielen Fällen nicht von einer merkbaren Abnahme des Muskeltonus befolgt zu sein braucht;* dass in einzelnen Versuchen eine ganz leichte Abnahme sich wohl beobachten lässt, kann u. E. gegenüber das positive Ergebnis, das ungeschwächt Erhaltenbleiben des Muskeltonus nach dem speziell darauf gerichteten Eingriff, nicht ins Feld geführt werden.

Wie die in einigen Versuchen, auch beim Frosch zu beobachtende ganz leichte initiale Hypotonie zu erklären sei, ist auch jetzt noch eine ungelöste Frage. Es sei für die Diskussion derselben auf die Mitteilung von DUSSER DE BARENNE in Pflügers Archiv **166**, S. 146, 161ff., 1916, verwiesen. Wir sind noch immer nicht überzeugt, dass die Lösung dieser Frage in der Annahme LANGELAANS (Brain **38**, 1915, S. 235), nach der diese Hypotonie eben den vom sympathischen System beherrschten „plastischen" Tonus representieren soll, während sein „contractiler" Tonus über die motorischen Nervenfasern ablaufen sollte, zu finden ist. Es lassen sich gegen die LANGELAANSche Auffassung mehrere experimentelle Tatsachen anführen (s. die zitierte Mitteilung von DUSSER DE BARENNE aus 1916, S. 164, u. 165).

---

[1]) Ob in den Extremitätenmuskeln auch autonome nervöse Apparate anderer Herkunft vorhanden sind, ist zur Zeit Gegenstand einer experimentell-anatomischen Untersuchung von Prof. Boeke und einem von uns (D. de B.).

[2]) S. de Boer, Zeitschr. f. Biol. **65**, 239. 1915.

Nach diesen weiteren experimentellen Erfahrungen am Warmbluter, wonach, wie gesagt, auch diese ganz leichte initiale Hypotonie in der übergrossen Mehrzahl der Fälle nicht auftritt, also nicht als ein *gesetzmässig* eintretendes Phänomen nach Sympathicusexstirpation zu betrachten ist, können wir bis auf weiteres, d. h. bis nähere experimentelle Ergebnisse uns eines anderen belehren, nur als unsere Meinung aussprechen, *dass der Muskeltonus*, so wie er sich in dem Widerstand der Muskeln gegen Dehnung kundgibt, *nicht vom sympathischen Nervensystem beherrscht ist.*

Nachdrücklich willen wir hier noch hervorheben, dass, wie auch die Frage nach der initialen Hypotonie gelöst werden mag, folgendes feststeht. Die in einigen Versuchen zu beobachtende Tonusabnahme ist eine ganz geringe; es handelt sich also dann nur um eine ganz leichte *Hypo*tonie. Von einer *A*tonie, d. h. von einem *totalen* Tonusverlust nach Sympathicusexstirpation, wie DE BOER behauptet hat, ist nicht die Rede.

Wer in dieser Hinsicht ein für allemal überzeugt werden will, mache nur den Versuch, der schon in Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **166,** 1916 auf S. 149 beschrieben und für den Frosch auf S. 150 abgebildet ist. Besonders am Warmbluter ist er sehr instruktiv. Bei einer Katze exstirpiere man auf einer Seite den ganzen Bauchgrenzstrang und überzeuge sich, dass nach diesem Eingriff man entweder keinen Tonusunterschied zwischen linker und rechter Hinterpfote oder in einzelnen Versuchen eine ganz leichte Hypotonie (initiale Hypotonie D. DE B.s) auffindet. Dann werden auf der der Grenzstrangexstirpation gegenüberliegenden Seite die Hinterwurzeln der betreffenden Hinterpfote durchtrennt. Daraus resultiert in der ersten Zeit nach dem Eingriff eine totale Erschlaffung dieser Extremität (BRONDGEESTsche Atonie). Der Unterschied zwischen beiden Hinterpfoten ist jetzt enorm.

Wo die akzessorischen autonomen Apparate BOEKES, deren zentrifugale Leitungsrichtung jetzt somit sichergestellt, ist, unseres Erachtens an dem Zustandekommen des Muskeltonus als mechanisches Phänomen nicht beteiligt sind, lag es auf der Hand zu denken, dass sie vielleicht zu den chemischen Prozessen im Muskel in Beziehung stehen, und dies um so mehr, als schon einige Angaben in der Literatur sich vorfinden, die in dieser Richtung hinweisen. Es ist z. B. VON MANSVELD und LUKAS [1]) angegeben worden, dass die respiratorischen Prozesse im Muskel unter autonomen

[1]) G. Mansfeld und A. Lukasz, Untersuchungen über den chemischen Muskeltonus. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **161**, 467. 1915.

Einflusz stehen sollten, eine Angabe, die allerdings in allerletzter Zeit von NAKAMURA [1]) im Laboratiorium LANGLEYS bestritten wurde; weiter haben JANSMA [2]) und RIESSER [3]), fussend auf die Untersuchungen von PEKELHARING [4]) und seinen Schülern (VAN HOOGENHUIJZE, VERPLOEGH, HARKINK) angegeben, dasz der Kreatinchemismus in den quergestreiften Musklen vom sympathischen Nervensystem beeinflusst werde.

Wir müssen hier auf die Hauptergebnisse der Untersuchungen von PEKELHARING und seinen Mitarbeitern eingehen, weil diese Mitteilung sich gerade mit den darin behandelten Problemen beschäftigt.

PEKELHARING und VAN HOOGENHUIJZE haben angegeben, dass der Kreatingehalt der quergestreiften Muskeln bei der gewöhnlichen, schnellen Kontraktion unverändert bleibt, bei der „tonischen" Kontraktion eine Vermehrung zeigt. Hieraus schliessen die Autoren, dass es sich bei diesen beiden Arten der Muskelkontraktion um zwei wesensverschiedene Prozesse handle. Sie gründen diese Ansicht auf folgende experimentelle Ergebnisse. Während der Gehalt an Kreatin bei rhythmischen Kontraktionen des Muskels durch indirekte Reizung, also vom Nerven aus, hervorgerufen, keine Aenderung erfährt, fanden sie dass eine deutliche Kreatinvermehrung eintritt, wenn der Muskel während der rhythmischen indirekten Reizung vergiftet wird mit „tonus"steigernden Stoffen, wie Coffein, Nicotin, Veratrin, $CaCl_2$. In Lösungen dieser Substanzen eingehängt, wird der gereizte Muskel starr, gerät er in „Tonus", ohne diese Substanzen nicht. Im „Tonus" spielen sich also nach PEKELHARING offenbar andere chemischen Prozesse im Muskel ab als bei der gewöhnlichen Kontraktion. PEKELHARING bringt noch weitere Beweise für diese Ansicht bei. In Versuchen mit HARKINK hat er beim Men-

---

[1]) H. Nakamura, The oxygen use of muscle and the effect of sympathetic nerves on it. Journ. of physiol. **55**, 100. 1921.

[2]) J. Jansma, Untersuchungen über den Tonus und über die Leichenstarre der quergestreiften Muskeln. Zeitschr. f. Biol. **65**, 365. 1915.

[3]) O. Riesser, Ueber Tonus und Kreatingehalt der Muskeln in ihren Beziehungen zu Wärmeregulation und zentralsympathischer Erregung. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **80**, 183. 1916/1917.

[4]) C. A. Pekelharing und C. J. C. van Hoogenhuijze, Die Bildung des Kreatins im Muskel beim Tonus und bei der Starre. Onderzoekingen Physiologisch Lab. der Universität Utrecht. V. Reeks, XI, 1910, S. 1; auch in Zeitschr. f. physiol. Chemie **64**, 262. 1910. – C. A. Pekelharing (und J. Harkink), Die Kreatinausscheidung beim Menschen unter dem Einfluss von Muskeltonus. Onderzoek. Physiol. Lab. Utrecht V, XII, 1911, S. 30; auch in Zeitschr. f. physiol. Chemie, **75**, 207. 1911.

schen, wo sich das Muskelkreatin nicht direkt experimentell bestimmen lässt, das Kreatinin im Harn bestimmt und gefunden, dass dasselbe nach angestrengtem Spazieren nicht zunimmt, während eine deutliche Vermehrung auftritt, wenn die Versuchperson während längerer Zeit in strammer Haltung gestanden hatte. Weiter soll bei einer anderen Form der „tonischen" Muskelkontraktion, nämlich bei der Enthirnungsstarre SHERRINGTONS, nach PEKELHARING und VAN HOOGENHUIJZE eine deutliche Vermehrung des Muskelkreatins auftreten. Bei der decerebrierten Katze, wobei die Hinterwurzeln einer Vorderpfote durchschnitten waren und somit in dieser Extremität die Enthirnungsstarre weniger ausgesprochen war als in der kontralateralen Vorderpfote, fanden die Autoren im Triceps der schlafferen Pfote weniger Kreatin als im Triceps des anderen Vorderbeines, das sich während der ganzen Dauer des Versuches in Enthirnungsstarre befunden hatte.

Das sind die hauptsächlichsten Angaben in der Literatur, die uns veranlassten, in erster Linie den evtl. Einfluss der akzessorischen autonomen Muskelapparate auf den Kreatingehalt der Muskeln zu untersuchen. Dazu haben wir in mehreren Versuchreichen die gewöhnliche motorische bzw. die autonome Innervation der Muskeln isoliert ausgeschaltet und den Einfluss dieser Eingriffe allein oder kombiniert mit verschiedenen Formen von Hyperinnervation auf den Kreatingehalt der Muskeln untersucht. Als verschiedene Hyperinnervationen haben wir benutzt einerseits die Enthirnungsstarre als *kontinuierliche* Hyperinnervation, andererseits langedauernde Reflexversuche am Tier mit in der Höhe von C. I durchtrenntem Rückenmarke (geköpftes Präparat nach SHERRINGTON) bzw. längeres Laufen des Tieres in einer Trittmühle als *phasische* Hyperinnervationen [1]).

Diese erste Mitteilung beschäftigt sich mit dem Einfluss der Enthirnungsstarre und der phasischen Innervation auf den Kreatingehalt der Muskeln; in der zweiten Mitteilung dieser Reihe werden wir dann unsere Versuchsergebnisse über den Einfluss der autonomen nervösen Apparate auf den Kreatingehalt der Muskeln bringen. Diesen beiden ersten Mitteilungen liegen 76 Versuche zugrunde, 5 davon sind am Hunde, alle 71 übrigen an der Katze gemacht worden [2]). Das Muskelkreatin wird hier überall in Promille

[1]) Wir werden uns auch weiter dieser nichts präjudizierende Nomenklatur bedienen und nicht des Ausdruckes „tonische" Innervation.

[2]) Die ersten 17 Versuche sind im Pharmakologischen Institut der hiesigen Universität ausgeführt; wir möchten auch hier Herrn Prof. Magnus für sein Interesse an unserer Arbeit bestens danken.

Gesamtkreatinin angegeben werden. Alle Kreatininbestimmungen sind von Cohen Tervaert im Laboratorium für Physiologische Chemie der hiesigen Universität, der operative Teil der Experimente ist von Dusser de Barenne ausgeführt.

Methodische Bemerkungen.

Die Bestimmung des Gesamtkreatinins der Muskeln geschah in den ersten 55 Versuchen mit der auch von Pekelharing [1]) angewandten Methode, in den letzten 21 Versuchen nach Folins [2]) einfacherer Methodik. Von jedem Muskelextrakt wurden immer 2 Bestimmungen gemacht.

Bei den Vorarbeiten, um sich in der Technik einzuüben, ergaben sich verschiedene Schwierigkeiten, die allmählich beseitigt wurden, und die wir an dieser Stelle kurz besprechen möchten. Pekelharings Methode ist folgende.

Der zerkleinerte und gewogene Muskel wird im Wasserbade mit Salzsäure von 1 % gekocht, bis er zerfallen ist, die Flüssigkeit dann zur Enteiweissung bei fast neutraler Reaktion nochmals gekocht, nach Erkalten gemessen und filtriert. Vom Filtrat wird eine bekannte Menge auf dem Wasserbade eingeengt, bis zu einer vermutlichen Kreatinkonzentration von etwa 1 ‰ und von dieser Flüssigkeit Portionen von 10 ccm mit 20 ccm norm. Salzsäure im Autoklav 30 Minuten lang auf etwa 115 ° erhitzt. Nach Abkühling wird die zur Neutralisation nach vorheriger Bestimmung ausreichende Menge sehr starker Natronlauge zugegeben und zu jeder Portion 15 ccm gesättigter Pikrinsäure und 5 ccm Natronlauge van 10 % zugesetzt und 5 Minuten später aufgefüllt bis 500ccm. Die Intensität der entstandenen Farbe wird dann im Kolorimeter in der üblichen Weise gemessen durch Vergleichung mit einer ½ norm. Kaliumbichromatlösung.

Folins Methode ist folgende:

Der gewogene Muskel (5—10 g) wird im Autoklav bei 130—135 ° C mit ½ norm. H_2SO_4 während einder halben Stunde erhitzt. Nach Abkühlung wird aufgefüllt bis auf 200—250 ccm (Aq. destill.), sodann wird filtriert. Es werden dann Portionen von 10 ccm Filtrat mittels Natronlauge von 10 % (Phenolphthalein) titriert. Sodann werden neue Portionen des Filtrats mit der gefun-

---

[1]) C. A. Pekelharing und van Hoogenhuijze, Zeitschr. f. physiol. Chemie, **64**, 262. 1909.

[2]) O. Folin, Journ. of biolog. Chem. **17**, 480. 1914.

denen Menge Natronlauge neutralisiert und zu jeder Portion noch 1,5 ccm dieser Natronlauge in Uberschuss zugesetzt. Dann werden je 20 ccm gesättigter Pikrinsäure zu den Portionen hinzugesetzt und nach Entwicklung der Farbe mit Wasser aufgefüllt bis auf 100 ccm und dann kolorimetrisch das Gesamtkreatinin bestimmt. Mit dieser einfacheren Methode werden auch sehr gute Resultate erhalten, wie wir noch zeigen werden.

Beim Gebrauch des Autoklavs haben wir, gleich wie PEKELHARING, darauf geachtet, dass das Volum der Flüssigkeit in den Erlenmeyerkolben sich so wenig wie möglich ändern konnte. Die Kolben wurden mit passenden Bechergläsern bedeckt. Nach Ablauf der für die Erhitzung bestimmten Zeit wurde die Gasflamme abgeschlossen und sogleich der Dampfhahn geöffnet, bis die Temperatur resp. der Druck bis auf 100 ° resp. 0 Atmosphären abgefallen waren. Dann wurde der Autoklav geöffnet.

In Übereinstimmung mit dem, was FOLIN darüber sagt, braucht man keineswegs Kreatinverlust zu befürchten, wenn man einige Grade höher als 115 ° erhitzt. Dies ergibt sich aus folgender Tabelle.

Einfluss der Temperatur auf gleiche Mengen Kreatin in Salzsäure.

Temperatur	Gefundene mg. Kreatinin
114—116°	6,11 6,16
129—132°	6,17 6,15

Nach Zusetzen der Pikrinsäure und der Lauge wartet man 5—10 Minuten zur Entwicklung der Farbe und füllt bis auf 500 ccm auf. Wir wählten dabei immer eine Wartezeit von 10 Minuten.

Die Reaktionstemperatur. Auch die Temperatur, bei der sich die Farbe entwickelt, beeinflusst deren Stärke; untenstehende Tabelle zeigt diesen Einfluss. Die darin angegebenen Werte wurden dadurch gewonnen, dass drei gleiche Portionen von 30 ccm bei verschiedenen Temperaturen 10 Minuten lang mit Pikrinsäure und Lauge behandelt wurden; sodann wurde mit Wasser aufgefüllt. Die Intensität der Farbe ist in mg Kreatinin angegeben.

Einfluss der Reaktionstemperatur.

Temperatur	mg Kreatinin
12°	8,1
20°	8,5
26°	8,9

Die Temperatur des Wassers, mit dem aufgefüllt wird. Schon PEKELHARING erkannte die Notwendigkeit, zum Auffüllen Wasser von Zimmertemperatur zu benutzen. Nun ist aber die Zimmertemperatur sehr schwankend; ist sie niedrig, so nimmt man innerhalb der ersten Minuten nach der Auffüllung noch eine Zunahme der Färbung wahr, während das bei höheren Temperturen des Wassers nicht der Fall ist. Bei Anwendung zu kalten Wassers ergeben sich, bei Ablesung innerhalb der ersten Minuten, unzuverlässige Werte. Man muss daher stets Wasser von gleicher und nicht zu niedriger Temperatur nehmen. In Abb. 1 sind diese Verhältnisse veranschaulicht. Harn und Wasser, in gleichen Portionen zu 30

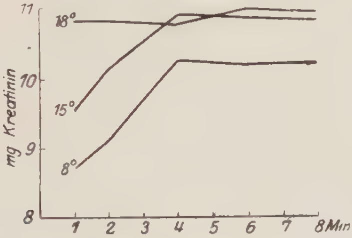


Abb. 1. Einfluss der Temperatur des Wassers, mit dem aufgefüllt wird.

ccm, welche unter den im obigen beschriebenen Bedingungen mit Pikrinsäure und Lauge behandelt worden waren, wurden mit Wasser von verschiedener Temperatur aufgefüllt; die Intensität der Farbe ist wiederum in mg Kreatinin ausgedrückt. Am zweckmässigsten ist also die Anwendung einer Wassertemperatur van 18 °.

Zur Prüfung der Fehlergrenze für das Verfahren nach PEKELHARING wurden mehrere Doppelbestimmungen an Muskelfleisch ausgeführt, deren Zahlen aus untenstehender Tabelle hervorgehen.

Doppelbestimmungen an Muskelfleisch.

	Totalkreatinin in ‰		Differenz in % des Mittelwertes (Versuchsfehler)
1.	4,098	4,097	0,024
2.	3,400	3,383	0,501
3.	2,766	2,875	3,864
4.	3,917	3,935	0,469
5.	4,687	4,512	3,804
6.	3,616	3,727	3,023
7.	2,272	2,273	0,044
8.	4,410	4,957	0,181

[in Versuch 8. war 0,555 mg Kreatin (als Kreatin) pro g Muskel zugefügt.]

Aus obiger Versuchreihe ergibt sich eine mittlere Differenz einer Doppelbestimmung von 1,5 % des Mitelwertes. Zur Prüfung der Fehlergrenze von FOLINS Verfahren wurde auch hierfür eine Doppelbestimmung an Muskelfleisch ausgeführt, die für die eine Portion 3,579 ‰, für die andere 3,497‰ ergab. Weiter wurde eine Bestimmung gemacht unter Zusatz einer bekannten Kreatinmenge. In der ersten Portion fanden wir 3,358‰, in der zweiten, zu der 0,490‰ Kreatin zugesetzt worden war, 3,813 ‰. Dass tatsächlich die Leistungen auch dieser Methodik sehr gute genannt werden dürfen, zeigte sich in einer Bestimmung, wo das Totalkreatinin von den Tricepsmuskeln der beiden Vorderpfoten einer normalen Katze bestimmt wurde. Für den rechten Triceps fand sich ein Betrag von 3,562 ‰, für den linken Triceps ein solcher von 3,537‰, d. i. eine Differenz von nur **0,7** % des Mittelwertes der beiden Kreatininzahlen.

ROSE[1]) hat angegeben, dass bei den Kreatinbestimmungen im Harn die Werte sich bei Anwesenheit von Dextrose ändern. Es dürfte also bei Erhitzung mit Säure aus der Dextrose eine Substanz entstehen, welche Pikrinsäure in der Kälte reduziert. Da Muskeln immer Glykogen enthalten, so war es angezeigt, zu prüfen, ob dieser Faktor auch bei Muskelextrakten eine Rolle spielt. Wir nahmen dufür zwei Extrakte von bekanntem totalem Kreatiningehalt und setzten vor der Erhitzung zum einen Mengen Glykogen, zum anderen eine Menge Glykose, entsprechend dem ungefähren Gehalt des Muskels an Glykogen. Er zeigte sich, dass durch die Zusätze *keine* Änderung der ursprünglichen totalen Kreatininmenge aufgetreten war.

Einfluss von Zusatz von Glykogen und Glykose auf das Totalkreatinin.

Ursprüngliche Werte	3,880 ‰	4,014 ‰
Gefunden nach Zusatz von 1,49 % Glykose .	3,917 ‰	
Gefunden nach Zusatz von 1,02 % Glykogen .		4,005 ‰

Aus dieser Zahlen geht ausserden nochmals die Genauigkeit unserer Kreatininbestimmungen hervor.

---

[1]) W. C. Rose, Journ. of Biolog. Chem. **12**, 73. 1912.

Ergebnisse.

Versuchreihe I[1]).

In dieser Versuchreihe wurde die cerebrospinale, motorische Innervation für den Gastrocnemius einer Hinterpfote isoliert, d. h. ohne Störung der autonomen Innervation des betreffenden Muskels, ausgeschaltet. Dies wird für einen grossen Teil der Muskeln der Hinterpfote, unter anderem auch für den Gastrocnemius erreicht, wenn man die vorderen Wurzen caudal von Lumbalis IV (durchschnittlich die letzte vordere Wurzel, die präganglionären sympathischen Fasern führt) durchtrennt. Hierauf wurden die Tiere dieser Reihe enthirnt und nach der Decerebrierung einige Stunden am Leben erhalten. In diesen Versuchen war also fast die ganze Muskulatur eine Hinterpfote, jedenfals der betreffende Streckmuskel, gelähmt, während die andere hintere Extremität sich während mehrerer Stunden in Enthirnungstarre befand. In einigen Versuchen wurden beiderseits die Gefässe der Hinterpfoten unterbunden, ohne dass diese Massnahme sich aber von Einfluss auf das Resultat gezeigt hat. Als Beispiel sei das Protokoll eines dieser Versuche angeführt.

Versuch XXVI 4. XI. 1920.

Katze. Aethernarkose. Trachealkanüle. künstliche Atmung. Vagi durchschnitten. Carotiden abgebunden. A. und V. femoralis beiderseits abgebunden. *Rechts* vordere Rückenmarkswurzeln caudal von Lumbalis IV durchtrennt. Enthirnung um 11h 55' a. m. Aether abgestellt. Künstliche Erwärmung des Tieres. Kopf gerade[2]). 12h 5' Sehr gute Enthirnungsstarre in beiden Vorderpfoten und in der linken Hinterpfote. Rechte Hinterpfote sehr schlaff.

Winkel am *linken* Sprunggelenk (bei gestrecktem Kniegelenk) etwa 140 °,

Winkel am *rechten* Sprunggelenk (bei gestrecktem Kniegelenk) etwa 90 °.

---

[1]) Die Numerierung der Versuchsreihen ist nicht die chronologische, sondern eine durch publikatorische Zwecke bedingte.

[2]) In allen Versuchen, wo das nötig war, wurde dafür Sorge getragen, dass der Kopf des Tieres sich in symmetrischer Stellung zum Rumpf während der ganzen Versuchsdauer befand, damit eventuelle Differenzen durch Einfluss von tonischen Reflexen (Magnus und de Kleijn) auf die chemischen Prozesse in den Muskeln vorgebeugt wurden. In allen betreffenden Protokollen wird diese Massregel durch die Bezeichnung „Kopf gerade" angeführt werden.

3h 55'. Winkel am *linken* Sprunggelenk (gestreckten Knie) etwa 170 °.

Winkel am *rechten* Sprunggelenk (gestreckten Knie) etwa 100 °.

4h. Tier durch Herzstich getötet. Versuchsdauer (d. h. Zeit nach der Enthirnung) 4 Stunden. Sektion: Vordere Wurzeln rechts durchschnitten von Lumbalis V. VI, VII, Sacralis I und II. Das Tier hat 13 rippentragende Wirbel und 7 Lendenwirbel.

Kreatiningehalt des rechten Gastrocnemius: 4,778 ‰,

Kreatiningehalt des linken Gastrocnemius: 4,767 ‰.

Differenz: 0,011 ‰; d. h. also praktisch **0.**

Das Ergebnis der 6 Versuche dieser Reihe geht aus untenstehender graphischer Darstellung (Abb. 2) hervor. Man sieht daraus,

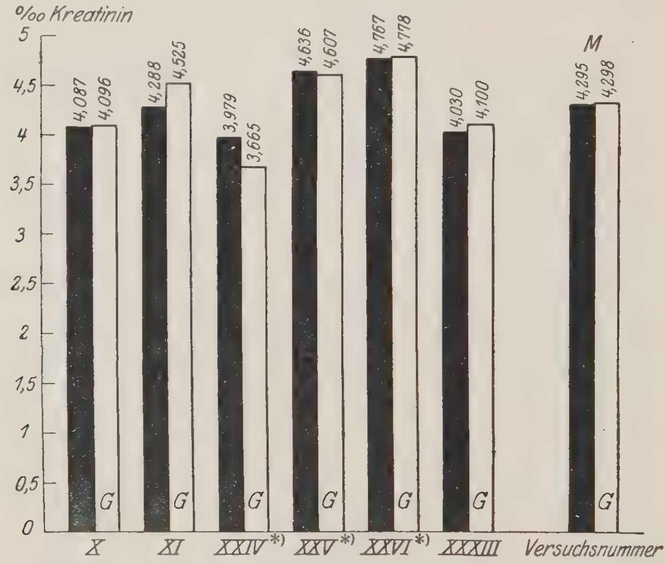


Abb. 2. Graphische Darstellung der Versuchsreihe I. (Einseitige Ausschaltung der motorischen Innervation des Gastrocnemius bei intakter sympathischer Innervation kombiniert mit Enthirnung). Mit schwarz ist der Kreatiningehalt der während mehreren Stunden in Enthirnungsstarre verbliebenen Gastrocnemii angegeben, mit *G* der Kreatiningehalt der motorisch gelähmten gegenseitigen Gastrocnemii. Unter *M* ist der mittlere Kreatiningehalt für die sechs starren resp. gelähmten Muskeln wiedergegeben. In den mit * angeführten Versuchen wurden im Anfang des Experimentes beiderseits die Art und V. femoralis unterbunden.

dass in 2 Versuchen ein Unterschied im Kreatingehalt des linken und rechten Gastrocnemius gefunden wurde, der ausserhalb der

mittleren Differenz, aber in entgegengesetzter Richtung lag; in den 4 übrigen Versuchen dieser Reihe war der Unterschied zwischen den linken und rechten Wadenmuskeln weit innerhalb der mittleren Differenz liegend. Wenn man die gefundenen Zahlen mittelt (Spalte 7 [M] der Graphik), dann ergibt sich, dass *die Muskeln die während einigen Stunden sich in Enthirnungsstarre befunden haben, denselben Kreatingehalt aufweisen als die, die während derselben Zeit motorisch gelähmt waren.*

Aus diesem Ergebnis geht hervor, dass unter diesen Umständen eine Vermehrung des Kreatingehaltes der starren Muskeln gegenüber den der schlaffen (motorisch gelähmten) Muskeln sich nicht zeigt. Es wäre aber möglich, dass der Kreatingehalt nicht von den cerebrospinalen, motorischen Nervenfasern beeinflusst wird, sondern von den autonomen, zentrifugalen, „akzessorischen" Apparaten, und dass, weil diese in diesen Versuchen auf beiden Seiten ungeschädigt erhalten waren, der Kreatingehalt der Muskeln beider Beine nach der Enthirnung in die Höhe gegangen wäre. Allerdings müsste man sich dann vorstellen, dass die Kreatinvermehrung im Muskel nach Enthirnung auftritt, sowohl wenn der Muskel starr wird als wenn er, infolge peripherischer, motorischer Lähmung, schlaff geblieben ist.

Wir haben daher diese Frage noch auf eine andere Weise zu beantworten versucht; es ist dies möglich, indem man den Gastrocnemius oder einen anderen Streckmuskel einer Pfote aus dem Körper herausnimmt und dessen Kreatinzahl als Normalzahl betrachtet, dann das Tier decerebriet und nach einigen Stunden den symmetrischen Muskel herausnimmt und auf seinen Kreatingehalt untersucht. Wir haben diesen Versuch bei 5 Tieren angestellt und werden hierüber untenstehend berichten.

Versuchreihe II.

Es sei folgendes Experiment als Paradigma aus dieser Reihe herausgegriffen.

Versuch XXXVII. 2. II. 1921. Katze. Aethernarkose. Tracheotomie. Künstliche Atmung. Vagi durchschnitten. Carotiden unterbunden. *Rechter* M. gastrocnemius entfernt. Danach Enthirnung des Tieres um 11h 30' a. m. Aether abgestellt. Künstliche Erwärmung des Tieres. Kopf gerade.

11h. 37'. Präparat in gutem Zustande. Starke Enthirnungsstarre in beiden Vorderbeinen und der linken Hinterpfote. 3h 40' *linker*

Gastrocnemius aus dem Körper genommen; danach erst Tier durch Herzstich getötet. Versuchdauer: 3 St. 50 Min.

Kreatiningehalt des rechten Gastrocnemius (*normaler* Muskel): 3,641 ‰.

Kreatiningehalt des linken Gastrocnemius (*starrer* Muskel): 3,601 ‰.

Differenz: 0,040 ‰, d. h. innerhalb der mittleren Differenz.

Das Gesamtergebnis der 5 Experimente dieser Reihe geht aus der folgenden graphischen Darstellung, Abb. 3 (S. 380), hervor

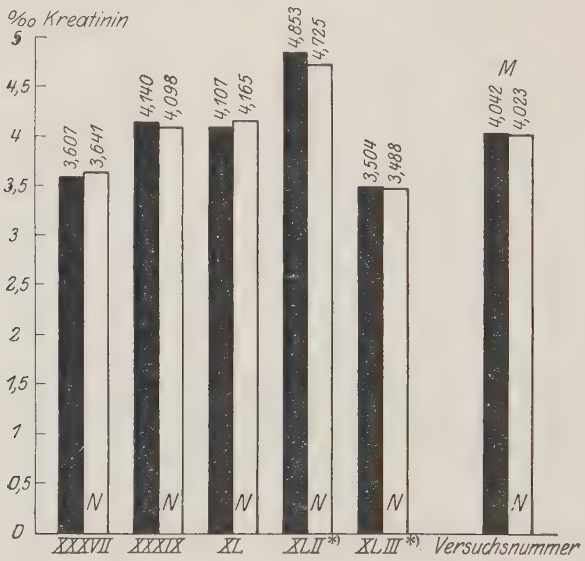


Abb. 3. Graphische Darstellung der Versuchsreihe II. (Exstrirpation des einen Gastrocnemius vor der Enthirnung des Tieres.) Mit schwarz ist der Kreatiningehalt derjenigen Muskeln angegeben, die während einiger Stunden in Enthirnungsstarre sich befanden, mit *N* der Kreatiningehalt der *vor* der Enthirnung exstirpierten Muskeln. Unter *M* ist der mittlere Kreatiningehalt der fünf starren resp. normalen Muskeln wiedergegeben. Die mit * gemerkten Versuche sind am Triceps der Vorderpfote ausgeführt.

und ist, *dass auch hier unter den betreffenden Versuchsumständen sich eine Erhöhung des Kreatiningehaltes der während einigen Stunden sich in Enthirnungsstarre befunden habenden Muskeln nicht nachweisen lässt.*

Herr Prof. Pekelharing erhob, als wir ihm unsere Befunde mitteilten, gegen diese letzte Versuchreihe den Einwand, dass es möglich wäre, dass von der ziemlich grossen Wundfläche, durch die

Exstirpation des Wadenmuskels gesetzt, Reize nach dem Zentralnervensystem emporstiegen, die einen deprimierenden Einfluss auf den Kreatingehalt des kontralateralen starren Muskels ausüben könnten. Um diesen Einward zu prüfen, haben wir in erster Linie an zwei Katzen einen Versuch gemacht, wobei durch Durchschneidung der hinteren Rückenmarkswurzeln der Pfote, dessen Gastrocnemius danach exstirpiert wurde, der Einfluss solcher Reize von der peripheren Wundfläche aus, verhindert wurde.

Die Protokolle dieser zwei Versuche lauten.

Versuch LXI. 30 IV. 1921. Katze. Aethernarkose. Tracheotomie. *Links* die hinteren Rückenmarkswurzeln caudal von Lumbalis IV durchschnitten, danach Exstirpation des *linken* Gastrocnemius. Künstliche Atmung, Vagi durchtrennt, Carotiden abgebunden. Enthirnung um 10h 20' a. m. Aether abgestellt. Künstliche Erwärmung des Tieres. Kopf gerade. Während des ganzen Versuches besteht im rechten Gastrocnemius eine sehr starke Enthirnungsstarre, bis um 3h 10' dieser Muskel ausgeschnitten und das Tier getötet wird. Versuchdauer also 4 Std. 50 Min.

Kreatiningehalt des linken (normalen) Gastrocnemius: 4,469 ‰,
Kreatiningehalt des rechten (starren) Gastrocnemius: 4,576 ‰.
Differenz: 0,107 ‰.

Versuch LXX. 25. V. 1921. Aethernarkose. Künstliche Atmung. Vagi durchschnitten. Carotiden abgebunden *Links* hintere Wurzeln durchtrennt von Cerv. VI, VII, VIII und Thor. I. Linker M. triceps exstirpiert. Enthirnung um 2h 52' p. m. Mässige Starre im rechten Vorderbrein. 5h rechter Triceps herausgenommen. Versuchsdauer 2 Std. 8 Min.

Kreatiningehalt des linken (normalen) Triceps: 4,568 ‰.
Kreatiningehalt des rechten (starren) Triceps: 4,786 ‰.
Differenz: 0,218 ‰.

Derselbe Zweck wurde dann auch noch in zwei weiteren Versuchen auf eine schonendere Weise erreicht, indem der N. ischiadicus und der N. femoralis hoch oben am Becken durchschnitten wurden und danach der betreffende Muskel an dieser Extremität herausgenommen wurde.

Die Protokolle dieser beiden Versuche folgen hierunter.

Versuch LXXII. 28. V. 1921. Katze. Aethernarkose. Künstliche Atmung. *Links* N. ischiadicus und N. femoralis durchtrennt. *Linker* Gastrocnemius exstirpiert. Vagi durchschnitten. Carotiden abgebunden. Enthirnung um 9h 12' a. m. Aether ab. Künstliche Erwär-

mung des Tieres. Kopf gerade. Bis 10h 15' sehr starke Starre im rechten Hinterbein, die dann innerhalb einiger Minuten sehr stark abnimmt. Darum schon um 10h 23' Exstirpation des rechten Gastrecnemius.

Kreatiningehalt des linken (normalen) Muskels: 4,259 ‰,
Kreatiningehalt des rechten (starren) Muskels: 4,300 ‰.
Differenz: 0,041 ‰.

Versuch LXXIII. 31. V. 1921. Katze Aethernarkose. *Links* N. ischiadicus und N. femoralis hoch am Becken durchschnitten. *Linker* Gastrocnemius exstirpiert. Enthirnung um 2h 30'. Aether ab. Künstliche Erwärmung des Tieres. Kopf gerade. Maximale Enthirnungsstarre bis zuletzt. Winkel im rechten Sprungelenk 170° (!). 5h 7' Exstirpation des rechten Gastrocnemius. Versuchdauer 2 St. 37 Min.

Kreatiningehalt des linken (normalen) Muskels: 4,141 ‰,
Kreatiningehalt des rechten (starren) Muskels: 4,234 ‰.
Differenz: 0,093 ‰.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass tatsächlich nach der Durchschneidung der hinteren Wurzeln bzw. der preripheren Nerven der kontralaterale, enthirnungsstarre Gastrocnemius bzw. Trizeps einen etwas höheren Kreatiningehalt aufweist als in anderen Versuchen ohne diese Nervendurchschneidung. Es muss aber bemerkt werden, dass auch diese Erhöhung des Kreatiningehaltes nur eine sehr niedrige ist, die weit hinter der zurückbleibt, die von PEKELHARING und VAN HOOGENHUIJZE in ihren fünf betreffenden Versuchen gefunden wurde. Besonders der letzterwähnte Versuch LXXIII ist unseres Erachtens beweisend; der Unterschied im Kreatingehalt ist zwar zugunsten des starren Muskels, liegt jedoch nur wenig ausserhalb der mittleren Differenz zwischen rechten und linken Gastrocnemius (in diesem Versuche 0,063 ‰); auf der anderen Seite muss man aber bedenken, dass hier während 1½ Stunde eine fast maximale Enthirnungsstarre im rechten Gastrocnemius bestanden hatte. Wenn irgendwo, dann hätte man doch in diesem Versuche einen sehr deutlichen, schlagenden Unterschied erwarten dürfen.

Man könnte vielleicht auf Grund van Versuch LVV, wo am Triceps ein grösserer Unterschied als in den Versuchen am Gastrocnemius gefunden wurde, sich fragen, ob in dieser Hinsicht etwa Unterschiede zwischen beiden Muskeln bestehen sollten. Wir glauben diesen Gedanken als sehr unwahrscheinlich zurückweisen zu kön-

nen, denn 1. haben wir auch Versuche am Triceps (siehe Versuch XLII, XLIII aus Abb. 3, sowie unten in Versuchreihe III), wo auch nur kleine Differenzen für diesen Muskel bestehen, 2. werden wir später in dieser Mitteilung noch Versuchsumstände anführen, unter denen auch am Gastrocnemius sehr deutliche Unterschiede zwischen rechtem und linkem Muskel auftreten. Schliesslich ist es doch auch nicht gut anzunehmen, dass Differenzen im Kreatinchemismus zwischen homologen Muskeln d. h. Streckmuskeln der vorderen und hinteren Gliedmassen eines Tieres vorliegen sollten.

Auf Grund der bis jetzt mitgeteilten Ergebnisse, besonders die der Versuchsreihe I, glauben wir annehmen zu dürfen, *dass durch die Enthirnungsstarre nicht eine Steigerung des Kreatiningehaltes in den quergestreiften Muskeln herbeigeführt wird.*

Aus diesem Versuchsergebnis würde sich dann noch eine andere Folgerung ergeben, nämlich, dass in den Enthirnungsversuchen mit einseitiger Hinterwurzeldurchschneidung PEKELHARING und VAN HOOGENHUIJZES nicht in den starren Muskeln mehr Kreatinin gebildet worden ist als in den durch die Ausschaltung der Proprioceptoren weniger starren Muskeln, sondern *dass in diesen letzteren der Kreatiningehalt abgenommen hat.* PEKELHARING und VAN HOOGENHUIJZE haben die Möglichkeit dieser Ansicht zwar erwähnt, aber sofort fallen gelassen; sie schreiben (l. c. S. 273) „Wir glauben also aus diesen Versuchen schliessen zu können, dass von den in Tonus sich befindenden Muskeln mehr Kreatin gebildet wird als von den ruhenden. Für die Annahme, dass der verschiedene Kreatingehalt einer erhöhten Zersetzung des Kreatins in den erschlafften Muskeln zugeschrieben werden müsse, scheint uns kein einzelner Grund zu finden zu sein."

Versuchreihe III.

Im Hinblick auf die Wichtigkeit dieser Frage haben wir den betreffenden Versuch von PEKELHARING und VAN HOOGENHUIJZE in dieser Versuchreihe wiederholt und ihr Ergebnis im wesentlichen bestätigen können, denn in 4 von den 8 Versuchen lag der Unterschied im Sinne von den genannten Autoren, in den 4 anderen Versuchen waren die Differenzen zwischen rechtem und linkem Muskel kleiner, in zwei derselben innerhalb, in den zwei anderen gerade ausserhalb der mittleren Differenz bzw. genau so gross wie diese. Ausserdem lagen diese beiden letzten Differenzen in entgegengesetzter Richtung zu der Angabe von PEKELHARING und VAN HOOGENHUIJZE. Untenstehende Tabellen geben die von PEKELHA-

RING und VAN HOOGENHUIJZE in ihren Versuchen erhaltenen Zahlen, sowie die von uns in der betreffenden Versuchreihe III gefundenen Werten wieder.

Tabelle von PEKELHARING en VAN HOOGENHUIJZE des Kreatiningehaltes der Muskeln in ‰.

	Starrer Muskel	Schlaffer Muskel	Differenz
I	3,690	3,090	0,600
II	4,340	3,048	0,492
III	4,219	3,902	0,317
IV	3,806	3,185	0,621
V	3,198	2,963	0,235

Tabelle der in unserer Versuchsreihe III gefundenen Kreatininzahlen (in ‰).

Versuchs-Nummer	Untersuchter Muskel	Kreatiningehalt des *starren* Muskels	Kreatiningehalt des *schlafferen* Muskels	Differenz	
				Starrer Muskel *mehr*	Schlaffer Muskel *mehr*
XVII	triceps	4,254	4,143	0,111	—
	gastrocn.	4,097	4,175	—	0,078
XIX [1]	triceps	4,029	3,840	0,189	—
XX	gastrocn.	4,636	4,485	0,051	—
XXI [1]	triceps	4,496	4,099	0,397	—
XXII	triceps	4,209	3,955	0,254	—
XXIII [1]	triceps	4,033	3,973	0.060	—
XXXII	triceps	3,664	3,720	—	0,056

Aus dieser Versuchreihe III geht somit hervor, dass wir die Angabe PEKELHARING und VAN HOOGENHUIJZE'S, dass in den starren Muskeln mehr Kreatin vorhanden ist als in den schlafferen *de facto* im wesentlichen bestätigen können; auf Grund unserer schon oben mitgeteilten Ergebnisse der Versuchreihe I und II können wir ihre *Deutung* dieser Tatsache nicht beistimmen. Die Enthirnungsstarre hat nicht eine Vermehrung des Muskelkreatins zur Folge, sondern wir meinen, dass in den durch die Hinterwurzeldurchschneidung schlafferen Muskeln Kreatin bzw. Kreatinin verloren gegangen ist.

[1]) In diesen Versuchen am Triceps der Katze wurde das Rückenmark im caudalen Brustmark durchtrennt, auch in al diesen Versuchen wurde dafür Sorge getragen, dass der Kopf des Versuchstieres nach der Enthirnung während der ganzen Versuchsdauer gerade gehalten wurde.

Sehr interessant ist in dieser Hinsicht folgender Versuch XIV, der eigentlich auch in diese Reihe III gehört, die wir aber aus bald ersichtlichen Gründen gesondert besprechen wollen. Ausserdem kann das Protokoll als Paradigma der Versuche dieser Reihe dienen.

Versuch XIV. 22. IV. 1920. Hund. Aethernarkose. Tracheotomie. Künstliche Atmung. Vagi durchschnitten. Carotiden abgebunden. Beabsichtigt wird, die hinteren Wurzeln von Lumbalis IV, V, VI, VII und S. I auf der *rechten* Seite zu durchschneiden. (Siehe Sektion!) Muskel- und Hautnaht. Enthirnung um 12h 30'. Kopf gerade. 4h 35' p. m. sehr starke Starre in den beiden Vorderbeinen und im linken Hinterbein. Rechte Hinterpfote sehr schlaff, wenn auch nicht ganz schlaff. 4h 50' Tier durch Herzstich getötet. Versuchsdauer 4 Std. 20 Min., während derselben war immer ein sehr stark ausgesprochener Unterschied in Starre zwischen rechten und linker hinterer Extremität vorhanden.

Bei der Sektion wurde festgestellt, dass, wie D. DE B. bei der Operation schon vermutet hatte, er zu hoch operiert hatte, denn es zeigte sich, dass die hinteren Wurzeln von Lumbalis I, II, II, IV und V durchschnitten waren.

Kreatiningehalt des *rechten* Gastrocnemius: 2,947 ‰,
Kreatiningehalt des *linken* Gastrocnemius: 2,964 ‰.
Differenz: 0,017 ‰, d. h. praktisch 0.

Dass in diesem Versuche auf der Seite der Wurzeldurchschneidung der schlaffere Gastrocnemius nicht eine Verminderung seines Kreatingehaltes aufweist, wäre vielleicht folgenderweise zu deuten. Der Gastrocnemius wird nach SHERRINGTON motorisch und sensibel von den Wurzeln von Lumbalis VI, VII und Sacralis I innerviert. Die hinteren Wurzeln von Lumbalis VI, VII und Sacralis I, deren Durchschneidung zwar beabsichtigt aber nicht ausgeführt wurde und die also mit dem Gastrocnemius in Verbindung stehen, blieben in diesem Versuche intakt. Es liegt auf der Hand, es diesem Umstande zuzuschreiben, dasz der Kreatingehalt des betreffenden Gastrocnmius nicht abgenommen hat. Wie die Durchschneidung der hinteren Wurzeln zu einer Kreatinabnahme im betreffenden Muskel führt, wollen wir hier nicht besprechen; dafür verweisen wir auf die 2. Mitteilung dieser Reihe.

Aus diesem Versuche geht auch noch in Bestätigung unserer obigen Ergebnisse hervor, dass die Enthirnungsstarre an sich nicht zu einer Kreatinvermehrung im Muskel Anlass gibt, denn der Gastrocnemius der linken Pfote war während mehreren Stunden

sehr starr, der rechte Gastrocnemius sehr schlaff gewesen und dennoch der Kreatingehalt der beide Muskeln derselbe.

Dieses Ergebnis wird natürlich nicht im geringsten dadurch tangiert, dass in diesem Versuche das Nichtauftreten der Einthirnungsstarre im rechten Wadenmuskel nicht von einer Ausschaltung seiner Propriozeptoren herrührt, sondern wahrscheinlich auf Shock, durch die Durchschneidung der unmittelbar cranial angrenzenden Hinterwurzeln, bezogen werden muss.

Nachdem wir den Einfluss der Enthirnungsstarre auf den Kreatingehalt der Muskeln besprochen haben, gelangen wir jetzt zur Frage, wie sich der Kreatingehalt verhält bei *phasischer* Hyperinnervation. Ueber diesen Punkt gibt uns Versuchsreihe IV eine Antwort.

Versuchsreihe IV.

In dieser Versuchsreihe haben wir an drei Katzen einen Gastrocnemius exstirpiert und seinen Kreatingehalt als Normalzahl betrachtet. Den Tieren wurden dann nach SHERRINGTONS Methode das Rückenmark am ersten Cervicalsegment durchschnitten („decapitate preparation", Halsmarktier nach MAGNUS) und durch längere rhythmische, faradische Reizung des zentralen Stumpfes des durchschnittenen N. peroneus an der intakten, zur Muskelexstirpation kontralateralen Hinterpfote rhythmische Beugereflexe hervorgerufen, d. h. es wurde an dieser Hinterpfote eine *phasische* Hyperinnervation gesetzt.

Die Protokolle dieser 3 Versuche folgen hierunter.

Versuch XLIV. 22. II. 1921. Katze. In Aethernarkose Exstirpation des *linken* Gastrocnemius. Dann Trachealkanüle. Vagi durchtrennt und Carotiden abgebunden. Durchschneidung des Rückenmarks an C. I. unter Abbindung der Vertebralarterien. Künstliche Erwärmung des Tieres. Kopf gerade. Aether ab. Rechter N. peroneus präpariert, durchschnitten und zentraler Stumpf auf SHERRINGTONsche Elektrode. Rhythmische faradische Reizung (RA = 55 mm) des rechten Nervus peroneus mittels Metronom, Reizperiode je 1 Sek., Ruheperiode je 1,5 Sek. Reizung angefangen 2h 50', Reizung geendigt um 3h 50'; bis zuletzt gute Beugereflexe der rechten Hinterpfote. 3h 51' Exstirpation des *rechten* Gastrocnemius. Versuchsdauer somit 1 Std.

Kreatiningehalt des *linken* (normalen) Gastrocnemius: 3,936 ‰.
Kreatiningehalt des *rechten* (gereizten) Gastrocnemius: 3,931 ‰.
Differenz: 0,005 ‰, d. h. praktisch 0.

Man könnte noch einwenden, dass der linke Muskel noch bei normaler Durchblutung exstirpiert worden ist, während der zweite Muskel während einer Stunde nicht nur gereizt wurde, sondern ausserdem während dieser Periode bei durch die Rückenmarksdurchschneidung viel niedrigerem Blutdrucke durchströmt wurde, wodurch sein Kreatiningehalt vielleicht ungünstig beeinflusst sein könnte. Um diesen Einwand zu prüfen, wurde in den beiden folgenden Versuchen die Exstirpation des ersten (normalen) Muskels erst *nach* der Rückenmarksdurchschneidung vorgenommen, sodass jetzt auch dieser Muskel längere Zeit beim niedrigen Blutdrucke des Rückenmarkspräparates im Körper verblieb.

Versuch XLIX. 18. III. 1921. Katze. Aethernarkose. Trachealkanüle. Vagi durchtrennt. Carotiden abgebunden. Künstliche Atmung. *Rechter* N. peroneus präpariert, durchschnitten und zentralen Stumpf auf SHERRINGTON-Elektrode gelegt. Querschnitt des Rückenmarks in Höhe von C. I nach SHERRINGTON's Methode um 2h 30' p. m. Kopf gerade. Aether abgestellt. Künstliche Erwärmung des Tieres, das bis 4h 7' ruhig bleibt. Dann 4h 10' Exstirpation des *linken* Gastrocnemius. Rhythmische, faradische Reizung des rechten N. peroneus sofort angefangen. (Reizungen je 1 Sek., Ruheperioden je 1,5 Sek., Rollenabstand 100 mm [Reizschwelle bei 298 mm]). 5h 10' Reizung beendet; bis zuletzt gute Beugereflexe des rechten Hinterbeines. Versuchsdauer 1 Std.

Kreatiningehalt des *linken* (normalen) Gastrocnemius: 4,500‰.
Kreatiningehalt des *rechten* (gereizten) Gastrocnemius: 4,614‰.
Differenz, wobei der *gereizte* Muskel *mehr* Kreatinin enthält: 0,114 ‰.

Versuch LII. 22. III 1921. Katze. Aethernarkose. Trachealkanüle. Vagi durchtrennt. Carotiden abgebunden. Rechter N. peroneus präpariert und dessen zentralen Stumpf auf SHERRINGTONsche Elektrode. Rückenmarksdurchschneidung an C. I um 9h 20' a. m. Künstliche Erwärmung des Präparates. Aether ab. Kopf gerade. *Linker* M. gastrocnemius herausgenommen um 10h 55'. Rhythmische, faradische Reizung begonnen um 10h 56' (Reizungs- und Ruheperioden, sowie Reizstärke wie im vorigen Protokoll). 11h 40' zwar noch kleine Beugereflexe, aber offenbar starke Reflexermüdung, deshalb Extirpation des *rechten* Gastrocnemius.

Kreatiningehalt des *linken* (normalen) Gastrocnemius: 4,660‰,
Kreatiningehalt des *rechten* (gereizten) Gastrocnemius: 4,440‰.
Differenz, wobei der *gereizte* Muskel *weniger* Kreatinin enthält: 0,22 ‰.

Aus dieser Versuchreihe geht unseres Erachtens hervor, dass *phasische* Hyperinnervation, sowie sie in diesen Versuchen bewirkt wurde, *den Kreatiningehalt der Muskeln unverändert lässt, jedenfalls keinen eindeutigen Einfluss darauf hat.* Im ersten Versuch trifft das erste ganz zu, in den beiden letzten Versuchen findet sich zwar eine Aenderung, die aber in entgegengesetzter Richtung liegt. Mitteln wir die Zahlen dieser Versuche, dann bekommt man für den Kratiningehalt der ruhenden Muskeln 4,365 Promille, für den der gereizten Muskeln 4,328 Promille, d. h. eine Differenz von 0,037 Promille, die weit innerhalb der mittleren Differenz bei diesen Kreatininwerten liegt.

Es kam uns unnötig vor, die Schlussfolgerung aus dieser Reihe gezogen, durch weitere ähnliche Versuche noch näher zu begründen, um so mehr als sie in guter Uebereinstimmung ist mit der schon erwähnten Angabe von PEKELHARING und VAN HOOGENHUIJZE, dass länger dauernde rhythmische, indirekte Reizung von Froschmuskeln, also nicht reflektorisch, sondern von den efferenten Nervenfasern aus, keine Aenderung des Kreatingehaltes dieser Muskeln bewirkt.

Auch könnte man als in Uebereinstimmung mit unserer Ansicht noch anführen, dass PEKELHARING und seine Mitarbeiter gefunden haben, dass angestrengtes Spazieren nicht von einer Vermehrung der Kreatininausscheidung im Harn, Einnahme einer strammen, militärischen Haltung während mehrerer Stunden (so stark und so lange als möglich), dagegen von einer deutlichen Zunahme des Harnkreatinus befolgt wird. So interessant an sich die Befunde von PEKELHARING und HARKINK sind, so möchten wir hier doch bemerken, dass wir einige Bedenken haben, ohne weiteres einen Parallelismus zwischen der Ausscheidung des Kreatinins im Harn und dem Kreatingehalt der Körpermuskeln anzunehmen. Uebrigens zeigen die abweichenden Ergebnisse von WEINBERG[1]) und SCHULZ[2]), wie verwickelt die vorliegenden Verhältnisse sind; vorläufig scheint uns ein Rückschluss auf den Kreatingehalt des Muskels aus der Kreatininausscheidung im Harn noch auf grosse Beschwerden zu stossen.

Also: Weder die Enthirungsstarre (kontinuierliche Hyperinner-

---

[1]) A. A. Weinberg, The influence of the nervous system on the excretion of creatinine. The biochem. Journ. **15**, 306. 1921.

[2]) W. Schulz, Der Verlauf der Kreatininausscheidung im Harn des Menschen mit besonderer Berücksichtigung des Einflusses der Muskelarbeit. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **186**, 126. 1921.

vation) noch phasische Innervation bzw. Hyperinnervation ändern den Kreatiningehalt der quergestreiften Muskeln. Ist dies auch der Fall, wenn die beiden Innervationsformen sich kombinieren? Um so mehr ist diese Fragestellung interessant, wenn man bedenkt dass kontinuierliche und phasische Innervationen sich im täglichen Leben der Tiere öfters kombinieren, miteinander interferieren bzw. abwechseln. Wir wollen dieser Frage also in der nächsten Versuchsreihe einer experimentellen Prüfung unterwerfen.

Versuchsreihe V.

In dieser Reihe wurde die Kombination dieser beiden Innervationen und ihr Einfluss auf den Kreatiningehalt der Muskeln in folgender Weise ermittelt.

Bei den Versuchstieren wurde in Narkose zuerst der Gastrocnemius einer Hinterpfote exstirpiert und dessen Kreatiningehalt als Normalzahl betrachtet. Dann wurden die beiden Nervi peronei präpariert, durchschnitten und die zentralen Stümpfe je auf eine SHERRINGTONsche Elektrode gelegt. Mittels zwei Induktorien konnten nun durch ein Metronom mit KRONECKER-Kontakten die beiden Nerven abwechselnd gereizt werden, so dass einmal der kontralaterale, das andere Mal der homolaterale Nerv. peroneus der Pfote mit intaktem Gastrocnemius gereizt wurde. Jetzt wurde das Tier in üblicher Weise enthirnt, und nachdem die Enthirnungsstarre sich entwickelt hatte mit der rhythmischen Reizung der beiden Nerven angefangen. Durch zweckmässige Abstufung der beiden Reizstärken kann man dann erreichen, dass durch die Reizung des kontralateralen Beinnerven eine Verstärkung, durch Reizung des homolateralen Peronealnerven eine Verminderung der Enthirnungsstarre hervorgerufen wurde. Am Ende des Versuches wurde der betreffende Gastrocnemius auch auf seinen Kreatiningehalt untersucht.

Untenstehendes Protokoll möge als Beispiel für alle Versuche dieser Reihe angeführt werden.

Versuch LXVI. 17. V. 1921. Katze. Aethernarkose, Trachealkanüle, künstliche Atmung, Vagi durchschnitten, Carotiden abgebunden. *Rechter* Gastrocnemius exstirpiert. Beide Nervi peronei präpariert, durchschnitten und zentrale Stümpfe auf SHERRINGTON-Elektroden gelegt. Enthirnung. Kopf gerade. Künstliche Erwärmung des Tieres. Aether abgestellt. Jede Elektrode im sekundären Kreis eines Induktoriums, in dessen primären Kreis ein Kontakt von einem nach KRONECKER eingerichteten Metronom und ein Accu von 2 Volt

eingeschaltet ist. Automatisch wird jetzt, wenn das Metronom in Gang gesetzt wird, abwechselnd der eine und der andere N. peroneus gereizt. Reizung angefangen um 10h 2'. Durch Ausbalanzierung der antagonistischen Reize gelingt es, sehr schöne alternierende Beuge- und Streckreflexe der Hinterpfote zu erzeugen, also phasische Verminderung und Verstärkung der Enthirnungsstarre hervorzurufen. 11h 44'. Exstirpation des *linken* Gastrocnemius. Danach Tötung des Präparates durch Herzstich. Versuchdauer 1 St. 42 Min.

Kreatiningehalt des rechten (ruhenden) Gastrocnemius: 4,294 ‰,
Kreatiningehalt des linken (gereizten) Gastrocnemius: 4,561 ‰.
Differenz: Der *gereizte* Muskel enthält mehr: **0,267** ‰.

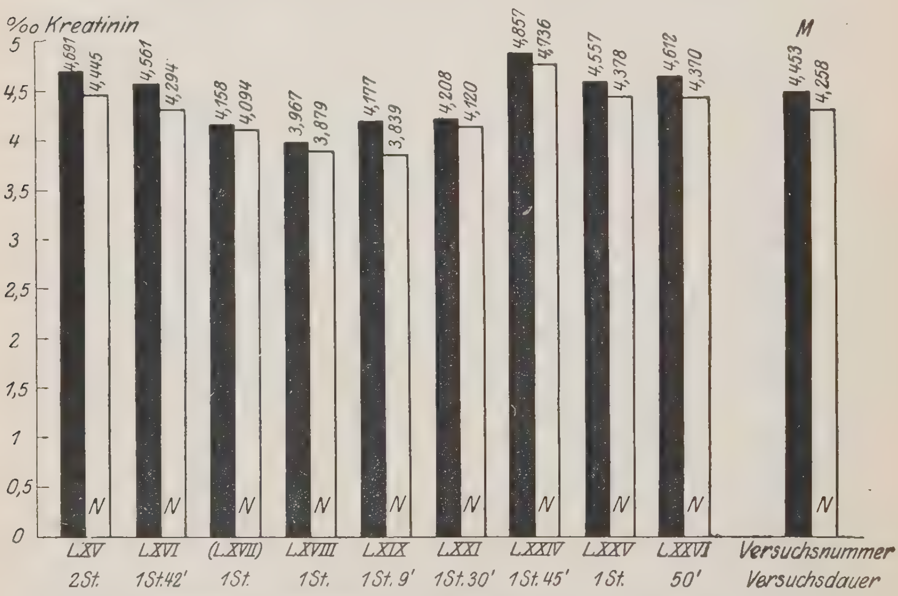


Abb. 4. Graphische Darstellung der Versuchsreihe V. (Einfluss von Enthirnungsstarre mit phasischer Hyperinnervation kombiniert.) Mit Schwarz ist der Kreatiningehalt derjenigen Muskeln angegeben, die während einiger Zeit in Enthirnungsstarre sich befanden, die von rhythmischen, plastischen Beugereflexen durchbrochen wurde, mit *N* der Kreatiningehalt der vor der Enthirnung herausgenommenen Muskeln. Unter *M* ist der mittlere Kreatiningehalt der acht starren resp. normalen Muskeln angegeben. Versuch (LXVII) ist nicht mit berechnet (siehe dafür Text).

Das Ergebnis dieser Reihe ist, wie aus obenstehender Graphik (Abb. 4) hervorgeht, *dass in allen 9 Versuchen eine Erhöhung des Kreatiningehaltes der gereizten Muskeln aufgetreten ist*, die nur in einem derselben, Versuch LXVII, innerhalb der mittleren Differenz lag.

Dass die Grösse des Unterschiedes in den einzelnen Versuchen nicht einfach von der Versuchsdauer beherrscht wird, sondern dass wahrscheinlich besonders die Intensität der funktionellen Vorgänge in dieser Hinsicht massgebend ist, geht aus einem Vergleich der Versuchszeiten in den respektiven Versuchen, besonders aus den Versuchen LXIX und LXXVI gegenüber LXV und LXVI hervor.

Interessant ist der Versuch LXVII.

Die Enthirnungsstarre war in diesem Falle nur anfangs und dann noch nur sehr mässig entwickelt, so dass sie schon 34 Minuten nach der Decerebrierung nicht mehr vorhanden war, während die alternierenden Reflexe, wenn auch nicht sehr stark, doch sehr deutlich während der ganzen Reizungsperiode vorhanden waren. Wir hatten in diesem Versuche also nur phasische Innervation, nicht mit kontinuierlicher Hyperinnervation kombiniert. Unsere Erwartung, dass hier der Kreatininunterschied zwischen den beiden Gastrocnemii sich innerhalb der wahrscheinlichen Differenz finden würde, ist wie aus der Graphik ersichtlich, vollauf bestätigt.

Dieser Versuch ist nun allererst ein weiterer Beleg für unsere Schlussfolgerung aus Versuchreihe IV, dass phasische Innervation allein nicht von einer Erhöhung des Muskelkreatins befolgt wird. Ausserdem aber verstärkt dieser Versuch LXVII durch ihr negatives Ergebnis sehr hübsch das positive Resultat der anderen Versuche, dass, falls eine Erhöhung des Kreatiningehaltes in diesen Versuchen auftreten will, das Vorhandensein einer gut ausgebildeten Enthirnungsstarre ein notwendiger Faktor ist. Aus allem geht also hervor, *dass bei Kombination von Enthirnungsstarre mit phasischer Innervation bzw. Hyperinnervation eine deutliche Erhöhung des Kreatingehaltes der Muskeln eintritt.*

Wir möchten hier noch darauf hinweisen, dass dieses Ergebnis in Analogie steht zu den schon erwähnten Versuchen von PEKELHARING und VAN HOOGENHUIJZE, worin sie gefunden haben, dass bei indirekter Reizung von Froschmuskeln, also von den efferenten Nervenfasern aus, keine Aenderung des Muskelkreatins eintritt, während dies wohl der Fall ist, wenn die Muskeln sich in Lösungen von „tonuserhöhenden" Substanzen zusammenziehen. Dann geht der betreffende Muskel allmählich in Kontraktur; während einer gewissen Zeit hat man dann somit eine Kombination von Muskelzuckungen und einer Art kontinuer Kontraktion. Obwohl wir natürlich nicht daran denken, die Prozesse, um die es sich in den betreffenden Versuchen PEKELHARINGS und in unserer Versuchsreihe V handelt, zu

identifizieren, scheint uns die Analogie doch zu interessant, um sie nicht kurz hervorzuheben.

Zusammenfassung.

1. Die Enthirnungsstarre lässt den Kreatingehalt der quergestreiften Muskeln (als Gesamtkreatinin bestimmt) unverändert.
2. Phasische Innervation am hohen Rückenmarkspräparat (geköpftes Präparat nach SHERRINGTON) lässt den Kreatingehalt der Muskeln unverändert.
3. Wird aber diese phasische Innervation superponiert auf Enthirnungsstarre, dann tritt eine deutliche Erhöhung des Muskelkreatins auf.

THE PRESENCE OF CARDIO-REGULATIVE NERVES IN PETROMYZON FLUVIATILIS [1])

BY

J. B. ZWAARDEMAKER.

In the 2nd edition of his „Physiologie des Kreislaufs" TIGERSTEDT [2])remarks that inhibitory cardiac nerves are present in nearly all vertebrates. Only among the cyclostomata some exceptions are known. GREENE [3]) found that in Myxine electrical stimulation, starting from the brain, the spinal cord or the vagi did not affect the frequency of the heart-beat. CARLSON [4]) corroborated this finding and tried to extend investigation to another group of cyclostomata, viz. the petromyzonta. At first he could work only on the larval form, in which cardio-regulative nerves appeared tot be absent. Afterwards he examined adult animals [5]). When, in these experiments, he applied an electrical stimulus to the medulla oblongata on the level of the vagus nucleus, he noted a brief standstill, which was followed by an accelerated rhythm. From this he conclused that „the central nervous system is connected with the heart by ordinary augmentor and probably also by inhibitory nerves" (l.c. p. 231).

In the continuing volume of his „Vergleichende Anatomie der Myxinoiden" JOHANNES MÜLLER makes mention of a connection between N. sympathicus and cardiac nerves [6]). He also adds some remarks about the N. vagus, for which I think it better to refer to the original work (l. c. p. 59 sqq.)

The first experiments which I made myself to ascertain whether in petromyzon fluviatilis any influence is exerted by the central nervous system upon the hearts action, yielded a negative result, which was in accordance with GREENE and with the first set of

[1]) Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam. March 24. 1923.
[2]) R. Tigerstedt, Die Physiologie des Kreislaufs II p. 319.
[3]) Ch. W. Greene, Amer. Journ. of Physiol. VI p. 311 1901.
[4]) A. J. Carlson, Zeitschr. f. allg. Physiol. IV p. 259 1904.
[5]) A. J. Carlson, Amer. Journ. of Physiol. XVI p. 230 1906.
[6]) J. Müller, Fortsetzung der vergleichenden Anatomie der Myxinoiden p. 57. Berlin 1838.

experiments performed bij CARLSON [1]). However, I have been in a position tot extend my research. In order to preclude movements of the animal I curarized it beforehand. Paralysis of the skeletal muscles can, in fishes, be effected only with very large doses [2]). For my animals I used 4 mgr. tubo curari of which, 2 mgr., injected intraperitoneally, was sufficient tot paralyze a 220 gr.-rat. after 7 minutes. This also plays an influence upon the vagus-function [3]), but this inconvenience could readily be obviated by the technique followed, because the synapses of the vagus are restored sooner than the motor innervation.

After the injection the animal was let alone until no „Stellreflexe" were distinguishable any longer. Also the gills are completely motionless then. At that juncture the cerebrum is severed from the rest of the nervous system by an incision posteriorly along the eyes. After this the cerebrum and the spinal cord are laid bare down to the second gill-hole. Now a straigt glass cannula is inserted into the Vena cava dextra, through which the animal, in ventral position, is prefused during some time with RINGER'S fluid, containing 6½ gr. NaCl, 200 mgr. Na HCO_3, 200 mgr. $CaCl_2$, 200 mgr. KCl [4]). The surplus of curari is hereby gradually washed out. Through a window in the cartilagenous pericardium [5]) the atrium is fixed to a lever beneath the animal. Now two thin platinum electrodes are fixed, so as to be well visible, at the level where stimulation produces the effect aimed at. With strongly curarized animals it sometimes takes rather a long time before any effect can be disinguished. At that moment, however, the animal is perfectly quiet, and the experimenter can be sure that only the movements of the heart are registered. In subsequent peroids of the perfusion also the contraction of the gills can be distinguished. The elec-

---

[1]) J. B. Zwaardemaker, Physiologendag Amsterdam Dec. 1922.

[2]) *a.* J. Schiffer, Arch. f. Anat. u. Physiol. p. 453, 1868.
b. J. Steiner, ibid 1875.
. Boll, Mon. Ber. d. Kgl. Preuss. Akad. d. Wissensch. Nov. 1875.
d. J. Steiner, Das americanische Pfeilgift Curare p. 56.
c. and *d.* After R. Boehm's article in Handbuch der experimentellen Pharmacologie II 1. Hälfte p. 183.

[3]) R. Boehm, l. c. p. 202.

[4]) J. B. Zwaardemaker, Diss. Utrecht 1922.

[5]) When the pericardium is being opened it all at once changes colour. Originally the heart is seen to loom vaguely through the transparent cartilaginous tissue with a bluish tint: after the opening the pericardium shows its own milkwhite colour, while the atrium now appears to lie at the bottom of the cavity. Apparently in the pericardium a negative pressure obtains, which of course is lost at the opening, so that the atrium partly collapses.

trodes are connected with the secondary coil of on inductorium of DU BOIS-REYMOND, provided with a NEEF-hammer An accumulator is connected up in the primary circuit. The Pfeilsignal, which was used sometimes (e.g. in the first figure), could not he placed in shunt, so it came in the primary circuit. The obtained coil-distances (C. d.) are smaller than when no signal is connected up. On stimulation we note a considerable acceleration shortly after the stimulus has been set up. If the stimulus continues a short time only (in fig. 1 5 seconds) the acceleration will be seen to disappear soon and to be substituted by a retardation; in case the latter in-

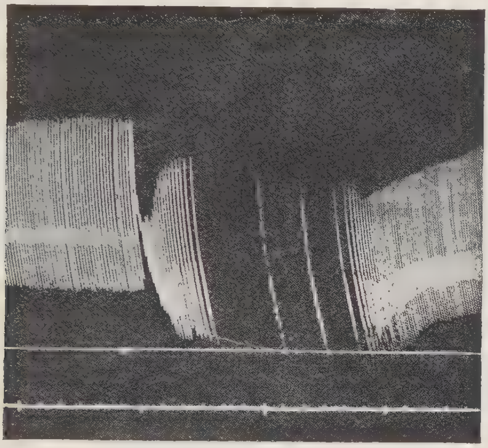


Fig. 1. Accerlerans-vagus effect.
Petromyzon fluviatilis. Perfused with Ringer's mixture. Stimulation for 5 seconds of medulla oblongata at the level of the exit of the N. vagus. C. d. 100.
The tracings from above downward: record of atrium movement
„ „ stimulus signal
„ „ time line 10 sec.

creases, the heart is brought to a standstill. After cessation of the negative chronotropic effect, a new rhythm appears, more rapid than the original. A little later it gives way to the old rhythm. In fig. 1 the rhythm prior to the stimulation is ± 45 beats per minute, after the standstill, the frequency amounts to 55. The action of side-currents upon the heartmuscle need not be taken into consideration in these experiments, because the effect appears only when a sharply defined area in the medulla oblongata is stimulated and

the effect is destroyed again by a slight displacement of the electrodes. Besides this a great influence is exerted by summation. A stimulus, for instance, that produces no effect after 5 seconds, causes a distinct standstill after a longer period of permanent stimulation.

When instead of presenting a short stimulus, the current is sent through permanently, at first a marked quickening of the rhythm will be noted, attended with a marked positive inotropic effect. This is apparently an accelerans effect.

When breaking the current during this period a standstill will rapidly ensue, which will disappear again directly after fresh stimulation. When, however, the current passes continuously, a slower

Fig. 2. Petromyzon fluviatilis.
Fatigue of accelerans and vagus through permanent stimulation from medulla oblongata. The stimulus starts at the first elevations. C. d. 143. This continues as far as the stroke. Time 10 sec.

rhythm will appear after some time spontaneously (in fig 2 ± 30 seconds), while at the same time the height of the contractions diminishes gradually. It is the transition to a distinct vagus effect. When this rhythm has also continued for some time (in fig. 2 about 1 min.), it will change into a rhythm that is only slightly quicker than the normal, or does not differ from it at all, and will persist unaltered after the breaking of the current.

When perfusing the animal with a potassium-free uranium-containing, instead of a potassium-containing fluid we shall see that the phenomena are practically the same in the K-, and in the U-condition. First we see an acceleration, then a retardation, which in some cases is followed again by an acceleration. This, however, is never so pronounced as at the beginning of the stimulation.

What has been said above goes to show that:

1. in Petromyzon fluviatilis cardio-regulative nerves are present.
2. with the technique employed after the removal of curari the

excitability of the cardiac nerves returns sooner than that of the motor nerves.

3. in the curarized animal the latent period of the accelerans is shorter than that of the vagus.

4. with long-continued stimulation the accelerans-effect is noticeable before the vagus-effect.

5. with brief stimulation the vagus effect appears only after cessation of the stimulation.

6. after cessation of the vagus-action an acceleration will sometimes follow, which is perhaps due to a longer after-effect of the accelerans-stimulation.

HOWELL'S THEORY OF VAGUS INHIBITION EXAMINED ON THE REGULATING NERVES OF PETROMYZON FLUVIÀTILIS [1]).

BY

J. B. ZWAARDEMAKER.

In accordance with the finding of Carlson on *Ichthymyzon castaneus* and *Ichthymyzon concolor* the existence of regulating nerves in *Petromyzon fluviatilis* is demonstrated. Both accelerating and inhibitory nerves are present and their action can be shown very distinctly for a considerable time. Hemmeter did not accept HOWELL'S theory, that „the vagus stops the heart by causing the liberation of diffusible potassium," for the lower vertebrates. But, as the experiments of Loewi show, it is most probable that by irritation of the vagus some not yet defined substance is set free.

The heart of Petromyzon is perfused with Ringer solution from the vena cava dextra. Two electrodes are placed on the floor of the fourth ventricle on the lateral side near the calamus scriptorius There the nucleus nervi vagi is faradised. First the heart-rhythm is accelerated, afterwards the automaticity is inhibited. If the stimulation is continued for a long time the heart escapes. If KCl is omitted from the RINGER solution the vagus loses its influence. When $UO_2\,(NO_3)_2$ is added the normal function returns (Lely). It is most probable that this recovery of the inhibitory influence depends upon æqui-radio-active substitution such as is known for the automaticity of the heart, etc., and for the vasomotorial synapse. In consequence of the radio-physiological antagonism it is impossible that a potassium intoxication could occur in a heart perfused by uranium RINGER. So the theory of HOWELL cannot give an explanation in the case of the alpha automaticity.

Frequent stimulation is quite harmless when potassium is present, but when potassium is replaced by uranium a strong negative inotrope effect remains for a long time, and it is possible that no recovery may occur till potassium is given. It is probable that in

---

[1]) XIth International Physiological Congress, held in Edenbnrgh, July 23–27, 1923.

consequence of vagus stimulation some substance which is of importance for the action of the heart muscle is liberated which may be regenerated when potassium is present, but not when it is a potassium compound which is set free by stimulation of the vagus, and may be broken down before it is washed away. This would be in accordance with the finding of Howell.

ON THE INFLUENCE OF THE VAGI ON THE ACTION-CURRENTS OF THE DIAPHRAGM DURING RESPIRATION [1])

BY

J. G. DUSSER DE BARENNE and J. B. ZWAARDEMAKER.

During an investigation on the influence of centripetal impulses on the action-currents of the diaphragm, we had to answer the question whether the nervi vagi have an influence on the action-currents of this muscle during its respiratory movements. Therefore we investigated the action-currents of the diaphragm before and after the elimination of the centripetal vagal impulses by section or narcosis of the vagi in the neck. In all our experiments we made use of the cat.

The action-currents of the diaphragm during its prolonged and strong contractions after this elimination show not only a greater amplitude than under normal conditions, but also, and this is the point to which we might draw attention especially, a greater frequency, differing about 10—22 per cent. from the normal frequency in the various experiments.

Forcible respiratory contractions of the diaphragm produced in other ways, such as closing of the trachea or breathing of a CO^2 atmosphere, do not give this augmentation of the frequency of the action-currents, such as occurs after elimination of the vagi. Only in one of our nine experiments we found during breathing of an atmosphere rich in CO_2 a similar augmentation; but this was after the vagi had already been narcotised earlier in the experiment.

We are inclined to look at this experimental fact as indicating that by the elimination of the centripetal vagal impulses an inhibitory factor on the respiratory centres is cut off. These centres then discharge themselves not only with greater energy, as indicated by the augmentation of the amplitude of the action-currents, but also with a higher frequency of their impulses, as indicated by the augmentation of the action-currents.

[1]) XIth International Physiological Congress, held in Edinburgh, July 23—27, 1923.

DIE KA-CA-ÄQUILIBRIERUNG IN TIERISCHEN SYSTEMEN [1])

VON

H. ZWAARDEMAKER.

Den frei diffundierenden Kalium- und Calciumionen kommt, wie das Studium der künstlichen Durchströmungsflüssigkeiten ergeben hat, in den tierischen Systemen eine hervorragende Bedeutung zu. K und Ca machen sich dabei gesondert geltend und halten dazu noch in einem bestimmten Verhältnis sich die Wage. Erstere Erscheinung wird uns hier nicht beschäftigen. Ich habe sie anderswo behandelt, worauf verwiesen sein mag [2]). Blosz der zweiten Erscheinung möchte ich einige Zeilen widmen. Dazu besteht um so eher Veranlassung, weil sie in neuerer Zeit in den Mittelpunkt der Aufmerksamkeit gerückt wird und — obgleich nur einen Teil der Kalium-Calcium-Frage umfassend — vielfach als das Essentielle der Ionenwirkungen betrachtet wird. Wirkliche Kenner des Problems, wie z. B. R. HÖBER [3]), K. SPIRO [4]) u. a., stehen einer solchen Einseitigkeit natürlich fern, sie schätzen nach Gebühr die spezifische Wirkung der Elemente, aber manche anderen glauben das Geschehen in der Physiologie erklärt zu haben, wenn sie die Erscheinung auf die An- oder Abwesenheit einer ungefähren, mit der Norm übereinstimmenden Aequilibrierung der K- und Ca-Ionenkonzentration zurückgeführt haben.

Die künstlichen Durchströmungsflüssigkeiten haben einigen Bedingungen zu genügen, die nicht aufgegeben werden sollen, wenn man in absichtlichen Versuchen das Verhältnis K : Ca variiert. In erster Linie musz der osmotische Druck konstant gehalten werden; dann musz die Lösung mit Sauerstoff gesättigt bleiben und endlich die Konzentration an Natriumcarbonat in der Weise gestellt werden, dasz eine Alkalinität $p_H = 7{,}4$ (nach elektrischer Methode) oder

---

[1]) Bioch. Zeitschr. Bd. 132, p. 95, 1922.

[2]) H. Zwaardemaker, Ergebn. d. Physiol. **19**, 326. 1921; Arch. internat. de physiol. **18**, 282, wo auch die früheren Publikationen angeführt werden.

[3]) R. Höber, Dtsch. med. Wochenschr. 1920, No. 16.

[4]) K. Spiro, Baseler Antrittsvorlesung am 1. III. 1921.

*p*H=7,6 (nach Indikatoren-methode gemessen) resultiert. In Balanzierungsversuchen ist es geeignet, bis auf *p*H=7,4 (nach Indikatorenmethode) herabzugehen, weil sonst bei Erhöhung der Ca-Konzentration die Gefahr der Präcipitation oder des Uebergangs in dispersen, kolloidalen Zustand droht. Insofern ist der klassische Brauch, $NaHCO_3$ 0,02% zu nehmen, empfehlenswert. Vermittels der Zugabe einiger Tropfen Neutralrotlösung überzeugt man sich übrigens von der richtigen Alkalinität (Umschlag bei *p*H = 7,4) und schafft sich zu gleicher Zeit die Gelegenheit, einer leichten Ansäuerung der durchströmten Gewebe, falls eine solche stattfindet, auf die Spur zu kommen.

Ueber physiologisch äquilibrierte Salzlösungen sind im Laufe der Zeit zwei Theorien angegeben worden. In erster Linie die Theorie J. LOEBS. Er führte den Zusammenhang der empirisch bewährten Konzentrationen auf das Massengesetz von GULDBERG und WAAGE zurück, und nimmt dabei umkehrbare Verbindungen zwischen Eiweisz und Elektrolyten an. Die Ionen würden sich gegenseitig aus den Verbindungen verdrängen, wobei selbstverständlich auch die Wertigkeit sich geltend macht. In neuerer Zeit wurde dazu noch den DONNANschen Grenzschnicht-Gleichgewichten Rechnung getragen. Eine andere Theorie ist von T. P. FEENSTRA angegeben. Es werden in den Grenzflächen des Protoplasma fixe Metallverbindungen vorausgesetzt, die bei der Umspülung mit einer wässerigen Flüssigkeit eine Lösungstension ergeben, welche zu einer Ausstoszung von Na-, K-, Ca-Ionen führt, wobei das fixe Depot negativ geladen zurückbleibt. Dieses Spiel schreitet fort, bis es zu einem Gleichgewicht mit den in der Flüssigkeit vorhandenen Ionen gleicher Art gekommen ist. Die Potentiale der drei Depots Na, K, Ca haben blosz dann einen gleichen Wert, wenn in der Lösung zwischen den Ionen das Verhältnis besteht, das erfahrungsgemäsz in einer guten RINGERschen Lösung vorhanden ist. Die beiden hier kurz skizzierten Theorien sind ganz allgemein. Sie gelten für alle Ionen, die gelegentlich in den Gewebsflüssigkeiten angetroffen sind oder die man absichtlich den Geweben aufdrängt.

Vom kolloidchemischen Standpunkt haben R. HÖBER [1]), K. SPIRO [2]) u. a. Ansätze gegeben für recht interessante Betrachtungsweisen, die namentlich von besonderem Wert sind für Funktionen, die mit der Permeabilität der Grenzflächen zusammenhängen. HÖBER [1]) schlieszt, nachdem er eine Uebersicht über die Calciumwirkungen

---

[1]) R. Höber, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **182**, 104. 1920.
[2]) K. Spiro, Schweiz. med. Wochenschr. 1921, No. 20.

gehalten hat, dasz den Kaliumionen ein leicht lockernder, den Calciumionen ein leicht schrumpfender Einflusz zukommt. SPIRO [1]) hat einen ähnlichen Gedanken geäuszert, bringt jedoch das Auflockernde mit einer von ihm experimentell festgestellten Löslichkeitssteigerung von Glykokoll und Leucin durch Kalium, das Schrumpfende mit einer Löslichkeitsherabsetzung dieser Aminosäuren durch Calcium in Zusammenhang. Die HÖBERschen und die SPIROschen Ausführungen sind einander sehr verwandt[2]). Mit der lockernden resp. lösenden Wirkung wird von vielen eine erhöhte, mit der schrumpfenden resp. dichtenden Wirkung eine erniedrigte Permeabilität in Verbindung gebracht. Da die gestörte Aequilibrierung die Funktion vieler Organe schädigt, musz m. E. gefolgert werden dasz die hypothetischen Permeabilitätsänderungen sich auf hochwichtige Agentia, wie Sauerstoff, Kohlensäure oder Kalium beziehen [3]). Zu

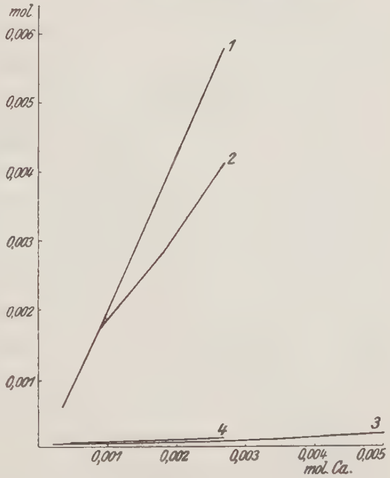


Abb. 1.

Auf der Achse der Abscissen sind die Mengen der Calciumionen, auf der Achse der Ordinaten die Mengen der Kaliumvertreter angegeben, beide in molaren Werten, 1 gibt die Aequilibrierung K : Ca; 2 die Aequilibrierung Rb : Ca; 3 die Aequilibrierung Ca : UO_2; 4 die Aequilibrierung Ca : Th wieder.

einer Verallgemeinerung auf alle Ionen, so dasz auch die Verhältnisse Na: K und Mg : Ca beobachtet werden können, gelangt man auf diesem Wege nicht. Auch wenn man versucht, die Aequilibrierungsformel auf die lyotropen Reihen auszudehnen, also neben $\frac{K}{Ca}$ auch noch die Verhältnisse $\frac{Li : Na : Rb : Cs}{Ba : Mg : Sr : Ba}$ annimmt, blei-

[1]) K. Spiro, Schweiz. med. Wochenschr. 1921, Nr. 20.

[2]) Nach Höber rührt der Gedanke, dem Calcium eine dichtende Wirkung zuzuschreiben, ursprünglich von Hans Meyer her.

[3]) Wenn man z. B. die Hypothesen Mansfelds und Szent Györgys verfolgt, nach welchen Kohlensäure die Ursache des Herzschlags sein sollte (Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **184**, 236), könnte man glauben, dasz das Kohlensäure-Anion nur bei intakter Permeabilität Zugang zum Inneren der Muskelzelle des Herzens bekommt.

ben Balanzierungen innerhalb einer selben Reihe unaufgeklärt. In dieser Hinsicht stehen die HÖBERschen und SPIROschen Ansätze hinter denen LOEBS und FEENSTRAS zurück. Das ist gewisz sehr zu bedauern, denn es wäre ein groszer Fortschritt, wenn man, HÖBER und SPIRO folgend, unsere Vorstellungen in eine kolloidchemische Form fassen könnte.

Wer bekannt ist mit den in den letzten Jahren in meinem Institut zutage geförderten Tatsachen, wird diese Hypothesen nicht blosz den Aequilibrierungen Na : Ca, K : Ca, K : Sr, sondern bei absichtlich vorgenommener Entfernung des diffusibeln Kaliums auch noch den Aequilibrierungen UO_2 : Ca und Th : Ca anzupassen haben. Wir waren 1916 gelegentlich einer Untersuchung über die radioäquivalente Vertretung des Kaliums sehr überrascht, auf sehr frappante Beziehungen in dieser Hinsicht zu stoszen. Wenn Ca als variabel genommen wird, hat man auch die Kalium-, Rubidium-, Uranyl- und Thoriumdosen abzuändern. Wir fanden eine vollkommen lineare Beziehung [1]).

Die numerischen Beziehungen sind folgende:

$$\frac{K}{Ca} = 2, \frac{Rb}{Ca} = \frac{3}{2}, \frac{Ca}{UO_2} = 35, \frac{Ca}{Th} = 20.$$

Genau verfolgt sind diese Balanzierungen für das Kaltblüterherz (Frosch, Kröte, Aal, Petromyzon), jedoch wir fanden sie ebenfalls für mehrere andere Organe (Darm, Uterus z. B.). Mit der Radioaktivität als solcher haben sie wahrscheinlich nichts zu tun, vielmehr hat man sie als Aeuszerungen der allgemeinen Ionenäquilibrierung zu betrachten. Es fragt sich nun, ob auch die kolloidchemische Erklärungsweise auf sie anwendbar sei.

Uranylnitrat (Acetat, Sulfat) und Thoriumnitrat sind Salze der Schwermetalle, die bekanntlich mit Eiweisz umkehrbare Koagulationen geben [2]). Man könnte also meinen, dasz sie eventuell noch mehr dichten werden als es die Calciumsalze vermögen. Man hat also in der Reihe Schwellung-Schrumpfung das Calcium in die Mitte zu stellen [3]). Die Beziehungen werden also:

$$K : Ca = 2 : 1; \qquad Ca : UO_2 = 35 : 1$$
$$Rb : Ca = 3 : 2; \qquad Ca : TH = 20 : 1.$$

Das neu gewonnene Ergebnis hat natürlich keinen Wert für die-

---

[1]) T. P. Feenstra, Onderz. Physiol. Lab. Utrecht, 6. R., Bd. II, S. 1. 1921.

[2]) G. Galeotti, Zeitschr. f. physiol. Chem. **40**, 492. 1904.

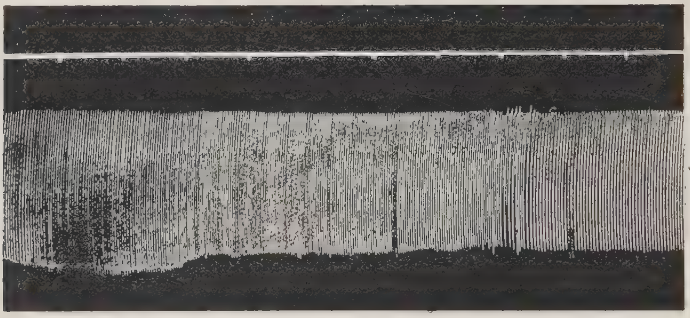
[3]) Der Mansfeldt-Györgyschen Hypothese folgend, würde man zwei intakte Permeabilitäten anzunehmen haben, eine bei gewöhnlicher Dichtigkeit und eine bei der abnorm hohen Dichte der Kombination Ca : Uranyl oder Thorium.

jenigen, die unsere radiophysiologischen Versuche nachprüften und nicht bestätigen konnten. Ich möchte diese Herren bitten, keine willkürlichen Abänderungen des experimentellen Verfahrens anzubringen, bevor sie das ausführlich beschriebene, absichtlich systematisch eingeschränkte, ursprüngliche angewendet haben [1]). Andere, die zwar die Herzen während einer halben Stunde oder länger pulsieren sahen, wegen zufälligen Frequenzunterschieden jedoch keine normale Automatie anerkennen wollen und lieber an eine Reizung durch Uranyl oder Thorium glauben, werden die neuen Aequilibrierungen Ca: UO_2 und Ca: Th ohne Frage mit Freude begrüszen. Sie werden mir unmittelbar die Frage vorlegen, ob nun auch die beiden äuszersten Glieder, die univalenten Leichtmetalle und die mehrwertige Schwermetalle, gegeneinander aufgewogen werden können. Die Frage musz unbedingt bejaht werden, wenn man ausschlieszlich nicht-radioaktive Schwermetalle für die Versuche verwendet. Die Muskellähmung durch Kalium fand HÖBER durch Ca, Mn, Ni, Zn umkehrbar beseitigt. Jedoch auch in diesem Fall musz man den Vorbehalt machen, univalente Ionen, Calcium und polyvalente Ionen nicht zu einer ununterbrochenen Reihe aneinander zu gliedern, denn die 2 Gleichungen univalent: Ca und Ca: polyvalent können für einen gegebenen Fall nie gleichzeitig richtig sein. Wenn eine bestimmte Funktion sich blosz mit einer bestimmten Permeabilität verträgt, kann nicht zu selben Zeit eine andere Permeabilität mit ihren umliegenden Werten, viel niedriger oder viel höher eingestellt, auch richtig sein. Deshalb soll es entweder heiszen: univalent: Ca = konstant, oder Ca: polyvalent = $konstant_2$, oder univalent: polyvalent = $konstant_3$. Sogar wenn man sich dieses Vorbehaltes bewuszt bleibt, ist es inzwischen nicht erlaubt in der dritten Formel radioaktive Ionen aufzunehmen, denn radioaktive Leicht- und Schwermetalle sind wahre Antagonisten, während es sich bei den Aequilibrierungen, wofür wir die Formel aufstellten, um Pseudoantagonisten (SPIRO) handelt.

Für die radioaktiven Ionen gelten andere Regeln. Man kann zwar einige Zusammenstellungen, in welchen Vertreter der im wahren Sinn antagonistischen Gruppen zusammengebracht sind, ausfindig machen, wobei eine Funktion auch auf die Dauer möglich ist, aber bei genauerem Gegeneinanderaufwägen kommt man immer zu einer Zone des vollkommenen Funktionsausfalls, beiderseits be-

[1]) So stellte z. B. S. G. Zondek, diese Zeitschr. **121**, 76, ganz andere Versuche an als wir und wunderte sich dann, dasz er etwas anderes fand.

grenzt durch Zonen der Ueberlegenheit einer der Wirkungen [1]). Wir haben viele solcher Gleichgewichtspunkte ausgesucht und flieszende Linien durch sie gelegt, die sich nach ganz bestimmten Gesetzen benehmen. Sehr begreiflich ist dies alles, wenn man den radiophysiologischen Standpunkt einnimmt, gänzlich unerklärlich durch Balanzierungsregeln. Sogar ein Anhänger der letzteren, der geneigt sein möchte, eine sprungweise Aenderung der erforderlichen Permeabilität anzunehmen, z. B. unter dem Einflusz einer gleichzeitig stattfindenden H-Ionenkonzentration (in den Versuchen jedoch ausgeschlossen, weil unter der Kontrolle mit Neutralrot die Alkalinität konstant gehalten wird), musz angesichts der Tatsachen einen solchen Gedanken aufgeben. Untenstehende Abbildung schildert den Uebergang eines Froschherzens von einer permanenten Durchströmug mit kaliumhaltiger RINGERscher Flüssigkeit auf eine permanente Durchströmung mit thoriumhaltiger RINGERsche Flüssigkeit, aus welcher das Kalium fortgelassen ist. Die Funktion bleibt vollkommen ungeändert, wenn man von einer ganz leichten Zunahme des Tonus absieht. Irgendeine Störung im Momente des hypotheti-



3 min.

150 mg KCl 50 mg Thoriumnitraat

Abb. 2. Uebergang von Kalium auf Thorium (am isolierten Froschventrikel). Der Uebergang von einer Ringerlösung mit 150 mg KCl pro Liter auf eine mit 50 mg Thoriumnitrat (ohne Kalium) pro Liter findet 7 Min. nach dem Anfang der Kurve statt. Die Anwesenheit des Thoriums ohne gleichzeitige Anwesenheit von Kalium bringt eine ganz leichte Zunahme des Tonus zustande.

schen Permeabilitätsprungs — falls man diese Denkmöglichkeit noch verteidigen möchte — findet nicht statt.

Und wenn man andere Fälle beobachtet, in welchen die von mir beschriebenen radiophysiologischen Paradoxen erscheinen, ist die

[1]) Bei Pseudoantagonisten, wie sie physiologisch äquilibrierte Salzlösungen veranlassen, befindet sich eine Zone der Funktionierung zwischen zwei Zonen des Funktionsausfalls.

rasch vorübergehende Störung manchmal einseitig vorkommend, wenn man von Uran auf Kalium, nicht wenn man von Kalium auf Uran übergeht.

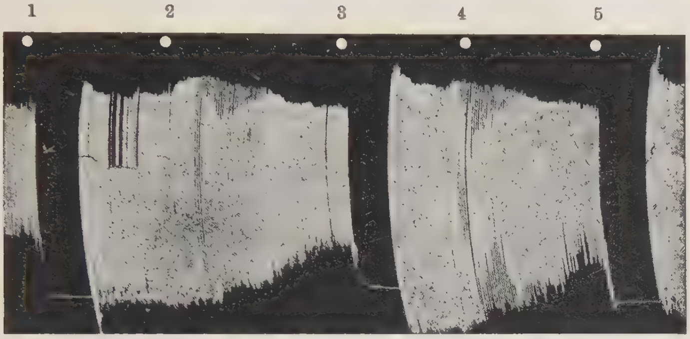


Abb. 3. Uebergang K ⟶ U und U ⟶ K (am isolierten Froschventrikel). Die Uebergänge von einer Ringerlösung mit 250 mg KCl pro Liter auf eine mit 25 mg Uranylnitrat pro Liter, oder umgekehrt, sind von weiszen Punkten angegeben. Punkt 1 von U auf K, Punkt 2 von K auf U, Punkt 3 von U auf K, Punkt 4 von K auf U, Punkt 5 von U auf K. Unmittelbar nach Punkt 2 und 4 fällt ein Schlag aus, aber sonst gehen die Pulsationen ruhig weiter. Nur entwickelt sich allmählich eine gewisse Tonuserhöhung. Beim ersten, dritten und fünften Punkt findet der umgekehrte Uebergang statt. Unmittelbar folgt ein 2 Min. anhaltender Stillstand. Während dieses sogenanten Paradoxons befindet sich der Ventrikel in Erschlaffung. Nach dem paradoxalen Stillstand kehren die ursprünglichen Kaliumpulsationen mit ursprünglicher Hubhöhe zurück. 1 cm der Abscisse entspricht etwa 4 Min.

Diese Dinge sind vom radiophysiologischen Standpunkt leicht zu verstehen. Hier äuszert sich der Gegensatz zwischen dem negativ geladene Elektronen aussendenden Kalium und dem positiv geladene Heliumatome auswerfenden Uran. Während des Uebergangs findet in den Lacunen des Herzens eine Mischung der Kalium- und Uranylionen statt, die in einem gegebenen Moment, in bestimmten, sich gegenseitig aufhebenden Mengen von den Muskelzellen des Organs adsorbiert werden. Beim Uebergang Uran-Kalium wird wegen der groszen Wanderungsgeschwindigkeit der Kaliumionen, die aus der weiten Ventrikelhöhle in die engen Lacunen vordringen, das Gleichgewicht plötzlich erreicht, beim Uebergang Kalium-Uran, weil langsam diffundierende Uranylionen in die engen Lacunen hinein müssen und das Gleichgewicht niedriger gestellt ist, weniger schroff. Blosz wenn, wie im Winter, der Antagonismus für verschiedene Konzentrationen gleichmäszig ist, zeigt sich das Paradoxon nach beiden Seiten für alle Uebergänge.

Eine ausschlieszlich auf Valenzregel und lyoptrope Reihen fus-

zende Betrachtungsweise steht diesen Erscheinungen, die sich in vielen Kombinationen und Permutationen variieren lassen, die in den bleibenden Gleichgewichten und den flieszenden Gleichgewichtslinien ihren schärfsten und reinsten Ausdruck fanden, vollkommen ratlos gegenüber, auch wenn sie die experimentell unbegründete, theoretisch irrationelle Annahme zweier getrennter in demselben Organ vorkommender physiologischer Permeabilitäten wagen möchte [1]).

Die radiophysiologischen Phänomene sollen nicht mit den Ionenäquilibrierungen zusammengeworfen werden, weil sie im Wesen verschieden sind. Beide existieren nebeneinander. Eine physiologische Aequilibrierung der vorhandenen Salze und eine physiologische Dosis Radioaktivität sind offenbar von einander unabhängige Bedingungen, denen ein Organ (Herz, Darm, Uterus, Synapsen) zu genügen hat, um *auf die Dauer* normal zu funktionieren.

Die Ionenäquilibrierungen haben gewisz ihre praktische Bedeutung bei der Ausführung radiophysiologischer Versuche [2]), berühren jedoch die Theorie der Kaliumradioaktivität nicht unmittelbar.

---

[1]) Ein Anhänger dieser irrationellen Annahme ist vielleicht geneigt, sich die Sachen in der Weise zurechtzulegen, dasz er voraussetzt:

1. Ca ohne Gegengewicht macht die Grenzschichten für wichtige, zum Leben unbedingt notwendige, von auszen einzuführende Stoffe impermeabel, ruft also Funktionsausfall hervor.
2. Sowohl K nach der einen Seite als UO_2 nach der anderen Seite kann das Gegegewicht herschaflen.
3. K und UO_2 zusammen sind auch unter sich einander antagonistisch, so dasz bei gleichzeitigen Vorhandensein dieser Ionen Ca wieder ohne Gegengewicht ist.

Akzeptiert man diese 3 Hypothesen, so stellt sich das merkwürdige Ergebnis heraus, dasz K und U in sub 3 einander in radio-äquivalenten Dosen entgegengesetzt sein müssen. 1916 fanden wir für Winterdosen, die sich bei Mischung gegenseitig aufheben:

K 53 U 12 Th. 24

So lauten die empirischen Zahlen.

Berechnet nach physikalischen Daten findet man als radio-äquivalente Werte:

K 53 U 3 Th 9

Diese kolloidchemisch vollkommen unbegreifliche Uebereinstimmung ist radiobiologisch ohne weiteres klar.

[2]) Es bleibt ein Nachteil, wenn man in radio-physiologischen Versuchen die Ionenäquilibrierung durchbrechen musz. Namentlich wenn der Versuch viel Zeit in Anspruch nimmt, wiegt der Nachteil schwer.

Zusammenfassung.

1. Wenn man neben den Theorien allgemeiner Ionenäquilibrierung eine spezielle kolloidchemische Betrachtungsweise stellen will, hat man eine dreifache Aequilibrierung anzunehmen: Leichtmetalle: Ca, Ca: Schwermetalle und Leichtmetalle: Schwermetalle.

2. Die radioaktiven Schwermetalle haben in der Gleichung Leichtmetalle: Schwermetalle keinen Platz, weil sie wahre Antagonisten sind, während es sich bei den Aequilibrierungen bekanntlich (Spiro) um einen Pseudoantagonismus handelt.

3. Die Erscheinungen der Radiophysiologie können vorläufig nicht rein kolloidchemisch erklärt werden.

DIE ALPHA-AUTOMATIEN DES HERZENS [1])

VON

H. ZWAARDEMAKER.

In der zweiten Auflage seiner Physiologie des Kreislaufs hat R. TIGERSTEDT [2]) in glänzender Weise die Bedingungen klargelegt, von deren Realisierung die Automatie des Herzens abhängig ist. Vom konditionellen Standpunkt betrachtet sind alle Bedingungen gleich wichtig, keine darf vernachlässigt werden. Erst vom kausalen Gesichtspunkt aus erhält jede Bedingung ihre eigene Bedeutung, und es eröffnet sich die Möglichkeit, eine herauszuheben und als Ursache zu ponieren. Falls es gelingt, einen solchen Faktor vor anderen, mehr oder weniger ähnlichen, zu vertauschen, tritt in dem, was den Vertretern gemeinsam ist, das Wesentliche einer solchen Ursache hervor.

In den letzten sechs Jahren habe ich diesen Weg für die Kaliumbedingung durchschritten. [3]) Es stellte sich heraus, dasz in manchen Systemen das Kalium der Körperflüssigkeiten für alle anderen radioaktiven Atome und auch für die Bestrahlungen vertauscht werden kann. Nicht nur dasz die automatisch ablaufenden, motorischen Periodizitäten des Herzens [4]), des Darms [5]) und des Uterus [6]) aufhören, wenn das Zirkulationskalium fehlt und diese Stillstände rückgängig werden, sobald das Kalium zurückkehrt, sondern statt Kalium lassen sich mit gleichem Erfolg die soeben genannten Vertreter verwenden. Das Gemeinsame in den weggenommenen und wieder zurückgegebenen Faktoren ist die Radioaktivität. In ihr wird man daher das kausale Prinzip zu suchen haben, durch

---

[1]) Skand. Arch. f. Physiol. Bd. 43, p. 287, 1923. Jubelband Tigerstedt.

[2]) R. Tigerstedt, Die Physiologie des Kreislaufs. 2 Aufl. Berl-Leipzig 1921. S. 245.

[3]) Eine Zusammenfassung dieser Untersuchungen findet man in Asher-Spiros Ergebnisse der Physiologie. Bd. XIX. S. 326. Die erste prinzipielle Darlegung fand am 30. November 1916 in der K. Akad. der Wissenschaften in Amsterdam statt. (Proc. vol. 19, p. 683.)

[4]) H. Zwaardemaker, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1917. Vol. I. p. 1174.

[5]) E. H. Jannink, Physiologentag, Amsterdam 1916.

[6]) H. de Raad, Diss. Utrecht 1922.

dessen Fehlen die Automatien schwinden und durch dessen Rückkehr sie aufs neue beginnen und erhalten bleiben. Aus diesem Raisonnement hat man selbstverständlich nicht zu folgern, dasz das nicht Gemeinsame in den Vertretern für das Geschehen ohne Bedeutung sei. Das wäre zu viel behauptet. Und ebensowenig geht aus meinen Befunden hervor, dasz auch alle andern Kaliumwirkungen, insbesondere die Ionenwirkungen, wie sie in den Balancierungen, in der Tonolyse, im EMBDENschen Kontraktionsmetabolismus zutage treten, radioaktiver Art sein würden. Es ist gut, sich auch nach dieser Richtung vor einer voreiligen Generalisierung zu hüten [1]. Es wäre schon viel, wenn auf unserm Weg die Kausalität der periodischen Automatien erschlossen werden könnte.

In den explosionsartigen, in unregelmäszigem Tempo erfolgenden, korpuskularen Strahlungen läszt sich vielleicht der unabwendbare ständige Faktor erblicken, der das Abklingen des hin- und herpendelnden Ana- und Katabolismus der Erregung verhindert und dadurch die Automatie dauernd im Gange hält [2]. Es fragt sich nun, ob die neue Theorie auch in allen Konsequenzen durchführbar ist.

In den Geweben und in den Körperflüssigkeiten wird die hier normaliter vorhandene Radioaktivität vom Kalium getragen [3]. Die Atome verfallen in geringer Zahl, denn die Radioaktivität des Elements ist nur schwach, hier und dort eine Eruption des Atomkerns. Wenn man ein trocknes Kaliumsalz in einer geeigneten Ionisationskammer einschlieszt, erkennt man an einem empfindlichen Quadrantelektrometer diese Strahlung sofort, auch wenn die Menge des Salzes blosz 100 mg oder noch weniger beträgt. Die Strahlung

---

[1]) Unentbehrlich z. B. zeigten sich die sonstigen Eigenschaften des Kaliums für das Wachstum von Colpidium in Versuchen von A. Peters, Journ. of Physiol. 1921. Vol. LV. p. 2 und für die Entwicklung der Echinodermeneier in Versuchen von R. Loeb, Journ. of Gen. Physiol. 1921. Vol. III p. 229. Man würde geneigt sein zu glauben, dasz ein Aufbau organischer Gebilde ohne das gröszte der Atome, das Kaliumatom, nicht zustande kommen kann. Allerdings scheint bei Gegenwart aller erforderlichen Bausteine die Radioaktivität noch einen gewissen Reiz auf das Wachstum auszuüben.

[2]) Man vergleiche deswegen meinen Aufsatz: „Die Energetik der periodischen Lebenserscheinungen" in Asher-Spiros Ergebnisse der Physiologie. Bd. VII. S. 12, wo ich eine bestimmte Phasengruppe A als den Schauplatz der Heringschen Dissimilation und Assimilation und auch als den Sitz der elektrischen Phänomene betrachtet habe. Ueber mögliche Rückwirkungen der beiden andern Phasengruppen B und C auf A handelt S. 16.

[3]) Die Radioaktivität des Kaliums wurde 1906 von N. R. Campbell und A. Wood entdeckt (Proc. Cambr. Phil. Soc. 1906. Vol. XV. p. 5). 1915—16 fingen in meinem Institut die Untersuchungen an, die die biologische Bedeutung dieser Eigenschaft des Elements ans Licht zogen.

ist sehr durchdringend und erreicht innerhalb des Gewebes in einer Entfernung von 1 mm ihren Halbwert. Sowohl das fixe Kalium der Zellen (Muskelzelle, Nervenfaser) als die Kaliumionen in den Flüssigkeiten strahlen, denn die Strahlung ist eine Atomeigenschaft und hat mit dem Zustand, in welchem die Atome übrigens verkehren, nichts zu tun. Sie ist unter allen Umständen die gleiche und wird von der Temperatur in keiner Weise berührt. Von den beiden Gruppen, das fixe Kalium und das frei migrierende, ist blosz letzteres leicht entfernbar. Es bleibt also unter den experimentell hervorgerufenen Umständen immer ein gewisser Teil des Kaliums in den Geweben zurück. Freilich mindert sich auch dieser Teil allmählich, wenn die Gewebe von irgendeiner geeigneten kaliumfreien Durchströmungsflüssigkeit durchströmt oder umspült werden. Beim Herzen ist das Entweichen des Kaliums aus dem Inneren der Muskelzellen von URANO und FAHR dargetan, und wie E. H. JANNINK [1]) bereits in meinem Institut feststellte und später für die Skelettmuskulatur von MITCHELL und WILSON [2] bestätigt wurde ,bedeutender während der Bewegung als in der Ruhe.

Es hat also den Anschein, als bestehe hauptsächlich bei der Kontraktion, während der vorübergehenden Abspaltung des Kaliumphosphats aus seiner fixen Verbindung, jedesmal für einige Augenblicke die Gelegenheit zur Wanderung der Kaliumionen, eine Wanderung, die selbstverständlich nur dann nach auszen gerichtet ist, wenn in der interstitiellen Gewebsflüssigkeit, bzw. im Blut, eine geringere Konzentration von Kaliumionen herrscht als in den Zellen. Ob in der umgebenden Flüssigkeit auch noch andere radioaktiven Ionen angehäuft sind, macht für die Diffusion des freigekommenen Kaliums nichts aus. Jedoch wird es von der Art der fremden Ionen abhängen, ob diese an der Stelle des eingetretenen Kaliums in die Zellen hineindringen oder blosz an der Oberfläche der Zellen haften werden. Rubidium und Caesium sind, wie MITCHELL und WILSON zeigten, zum ersteren imstande, die radioaktiven Schwermetalle, so viel sie bis jetzt untersucht wurden, nicht, die kolloidal gegebenen Präparate erst recht nicht.

Auch in der Ruhe fehlt das Freigeben des Kaliums aus den Geweben nicht. Bei ständiger kaliumfreier Durchströmung können im

---

[1]) E. H. Jannink, von mir zitiert im Amer. Journ. of physiol. 1918. Vol. XLV. p. 153. Nach Jannink, Diss. Utrecht 1921. p. 24, betrug die Kaliumabgabe aus dem Froschherzen in der Ruhe 0.5, während der Pulsationen 0.8 mg pro Liter der durchströmten Flüssigkeit.

[2]) P. H. Mitchell und J. W. Wilson, Journ. of gen. physiol. 1921. Vol. IV. p. 45.

Lauf mehrerer Stunden sogar sehr grosze Beträge hinaustreten. Nach A. J. Clark [1]) ist aus einem Froschherzen in sechs Stunden ungefähr die Hälfte des fixen Kaliums verschwunden. Es ist nicht unmöglich, dasz eine noch hinzukommende Bestrahlung die Geschwindigkeit der Freigabe des Kaliums erhöht [2]).

Es kann also kein Wunder nehmen, dasz ein automatisch bewegendes Organ, in kaliumfreie Umgebung gebracht, im Mittel nach einer halben Stunde seine Zusammenziehungen aussetzt. Nicht allein, dasz das bewegliche, als Ion diffundierende, oder adsorbierte Kalium völlig entfernt worden ist, auch das fixe Kalium hat abgenommen.

Wir wollen beiden einen physiologischen Einflusz zuschreiben, verschieden je nach der an Ort und Stelle vorhandenen Menge und den Entfernungen, die zwischen den explodierenden Atomkernen und dem Sitz der Erregung zufallig vorhanden sind. Mit zunehmender Entfernung musz die Auswirkung rasch abnehmen, denn obgleich ein ausgeschleudertes Teilchen wegen seiner ungeheuren Energie imstande ist, auf seiner Bahn Hunderttausende von Elektronen frei zu machen, so nützt diese Wirkung biologisch nichts, wenn die Bahn durch unerregbare Stellen führt. Die Strahlung möge sich auf mehr als einen Millimeter verbreiten, der Weg eines Teilchens ist nicht vorgeschrieben und es ist dem Zufall überlassen, ob die gewaltige Energie desselben der Erregung zugute kommen oder sich in die umgebenden Flüssigkeiten [3]) und Gelen verlieren wird. Wenn, wie meistens angenommen, die Automatien Oberflächenprozessen zuzuschreiben sind [4]), und die Adsorption wahrscheinlich eine Anreicherung des Kaliums in den Grenzschichten zustande bringt, wird der Einflusz der adsorbierten Atome wohl am gröszten

---

[1]) A. J. Clarck, Journ. of Pharmacol. and exp. Therap. Vol. XVIII. p. 425.

[2]) H. Zwaardemaker, Pflügers Archiv. 1918. Bd. CLXXIII. S. 57. Blutkörperchen geben das Kalium unter Bestrahlung reichlicher frei, auch dann, wenn Hämolyse noch fehlt. So wäre es sogar denkbar, dasz ein passierendes positiv oder negativ geladenes Teilchen in den doppelbrechenden Strukturen der Muskelsubstanz, wo nach Macallum das Kalium gespeichert ist, eine plötzlich erhöhte Freistellung von Kalimionen veranlaszt und in dieser Weise zur Erhaltung einer Automatie beiträgt, ein Gedanke, den ich Prof. Langelaan schulde. Auch die Gammastrahlung kann ähnliches herbeiführen (vgl. Pflügers Archiv. Bd. CLXXIII. S. 55.

[3]) Von diesem Gesichtspunkt aus hat man, glaube ich, auch das Resultat Libbrechts zu beurteilen, der die gewaschenen Blutkörpchen in kaliumfreier Ringerscher Flüssigkeit zur Unterhaltung einer Automatie erst tauglich fand, wenn sie durch Hämolyse ihr Kalium freigegeben hatten.

[4]) H. Zwaardemaker, K. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, 23. Dez. 1921. Proc. Vol. CCXLI. p. 2216.

sein, aber um allen Möglichkeiten gerecht zu bleiben, hat man die Strahlung des Kaliumdepots nicht zu vernachlässigen. Wir wollen uns daher vorstellen, dasz in einem kaliumfrei durchströmten Organ schlieszlich die Gesamtsumme der Strahlungen unter eine gewisse Schwelle gesunken sei und wir das Fehlende durch irgendein anderes radioaktives Element herbeischaffen wollen. Wählen wir Radium, so genügt eine winzige Menge, weil Radium unvergleichlich viel stärker strahlt, d. h. seine Atome statistisch pro Sekunde viel zahlreicher einer Eruption anheimfallen, als Kalium [1]). Von einem provisorisch berechneten Wert [2]) tastend ausgehend, fanden wir in den Versuchen 3 Mikromilligramm als eine geeignete Dosis pro Liter. In einer schwach alkalischen Flüssigkeit wie die S. RINGERsche [3]) jedoch bleibt das Radiumbromid nicht lange in Lösung [4]). In etwa zwei Stunden ist es präzipitiert, die Lösung nahezu inaktiv zurücklassend. Allzulange dürfen wir mit derselben Flüssigkeiten also nicht fortarbeiten. Andererseits erfordert das Ingangsetzen der Automatie durch neu herbeigeführtes Radium einige Zeit, im Mittel eine Viertelstunde; das Umgekehrte, die Ruhigstellung des Organs nach Entfernung der aktiven Durchströmungsflüssigkeit und Ersetzung derselben durch eine inaktive, ist noch zeitraubender, was kein Wunder nehmen kann, weil überall an den Gewebszellen Atome des Radiums adsorbiert bleiben (ein Paar Tropfen der Durchströmungsflüssigkeit enthalten deren viele Millionen). Die genaue Beachtung der quantitativen Verhältnisse wird also hier wohl sehr erschwert. Durch öftere Erneuerung der Flüssigkeiten, sorgfältige Reinigung der Gefäsze mit angesäuertem Wasser und wiederholter Einschiebung inaktiver Durchströmungen kann man schlieszlich der Umstände Herr werden. Wenn man dann durch inaktive Durchströ-

---

[1]) Das Radium hat eine Alpha- und Betastrahlung, von welchen die erstere bei weitem überwiegt, das Kalium eine Betastrahlung. Blosz kinetisch sind die beiden Strahlungen vergleichbar. Anfänglich wurde also auch blosz auf die kinetischen Eigenschaften geachtet und diese zur Führung genommen, sowohl in den Berechnungen als in den Versuchen.

[2]) H. Zwaardemaker, Aequiradio-activity. Amer. Journ. of physiol. 1918. Vol. XLV. p. 147. Das Radium machte es uns möglich, weil es eine Doppelstrahlung besitzt, in den Berechnungen, vorausgesetzt, dasz man blosz ein kinetisches Verhältnis berücksichtigt, von der Beta- auf die Alphastrahlung überzugehen, dabei vorläufig die Verschiedenheit der Ladung völlig vernachlässigend. Man vergleiche übrigens auch noch Arch. int. de Physiol. 1921. T. XVIII. p. 282.

[3]) Die verwendete Locke-Ringersche Lösung enthielt pro Liter 7 g NaCl, 200 mg $CaCl_2$, 200 mg $NaHCO_3$ und 1 g Glykose.

[4]) A. S. Eve, Amer. Journ. of Science (4) 1906. Vol. XXIII. p. 4.

mung ein anfänglich durch Radium pulsierendes Herz zum Stillstehen gezwungen hat und aufs neue mit radiumhaltiger Lösung durchströmt, zeigt sich die Latenzzeit deutlich verkürzt. Innerhalb 3 bis 10 Minuten fingen zum zweiten Male unsere Herzen zu pulsieren an.

Die Dosis von 3 Mikromilligramm Radium pro Liter ist wahrscheinlich etwas zu grosz. Wenigstens wenn man die Lösung vor der Benützung auskocht und dadurch alle noch in der Lösung vorhandene Emanation vollständig entfernt, bleibt sie dennoch wirksam. Etwa die doppelte Dosis, also 6 Mikromilligramm, hat man bereits als toxisch zu betrachten.

Ein Froschventrikel, der erst durch Kaliumentziehung zum Stillstand gebracht ist und dann wieder durch Radium seine Automatie zurückbekommen hat, bleibt bei der Fortsetzung der Durchströmung, jedoch jetzt mit inaktiver Lösung, sehr lang pulsierend, für gewöhnlich während einer Stunde oder mehr. Wir begnügten uns meistens, die neu gewonnene Automatie während einer Stunde zu beobachten und dann abzubrechen.

Jetzt, wo wir die Menge Radium kennen, die imstande ist, mit ihrer Radioaktivität jene des normalen Kaliums zu vertreten, hat es keine Schwierigkeit, der Dosierung für alle anderen Elemente auf die Spur zu kommen. Die empirischen Dosen wurden für Uran und Thorium ungefähr übereinstimmend mit den theoretisch zu erwartenden gefunden. Von Ionium jedoch muszte bedeutend mehr genommen werden als berechnet, was wohl sicher von der Instabilität der kolloidalen Lösung herrührt, die auch vorläufig nicht durch die Hinzufügung eines Schutzkolloids verbessert werden konnte[1]). Auch von Radiumemanation muszte mehr genommen werden als berechnet, was wir dem leichten Entweichen des Gases zuschreiben[2]).

Alle Dosierungen konnten merkwürdigerweise im Sommer erniedrigt werden, wenigstens beim Kaltblüterherz, wobei aber die Proportionen für die verschiedenen radioaktiven Elemente unter sich beibehalten blieben [3]).

---

[1]) W. H. Levend, Onderz. Physiol. Lab. Utrecht (6). Vol. II. p. 162.

[2]) H. Zwaardemaker u. T. P. Feenstra, C. R. Soc. de Biol. T. LXXXIV. p. 377.

[3]) H. Zwaardemaker, K. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, 29 Jan. 1921. Proc. Vol. XXIII. No. 8. Arch. int. de Physiol. 1921. Vol. XVIII. p. 282.

Empirische Dosen für Kaltblüterherzen.

Im Winter	In Milligrammen pro Liter	Im Sommer
100	Kaliumchlorid [1])	20
150	Rubidiumchlorid	30
25	Uranylnitrat	0,5—5
50	Thoriumnitrat	2—10
1	Ionium-(Thorium-)nitrat	0.5
54 *à* 360.10^{-10} Curie	Emanation	
3 Mikro-milligramm	Radium	0.5 Mikromilli-gramm

Die Herzen wurden bis jetzt pro miscue: dem Petromyzon, dem Aal, dem Frosch, der Kröte, der Schildkröte, dem Kaninchen entnommen. Bei den Kaltblütern dienten abwechselnd das Herz in situ (also das Sinusherz), das Symesherz (also Vorkammer- und Kammerherz), das Kroneckerherz (also der isolierte Ventrikel), die Durchströmungen, wobei immer gänzlich neue Flüssigkeit bestimmter Zusammensetzung dem Organ zugeführt wurde und letzterm also eine bestimmte Dosierung aufgedrungen wurde. Bei Warmblütern wendeten wir die Langendorff-Methode an. Das Natriumchlorid war kaliumfrei, des Calciumchlorid ohne Wasser berechnet, die aktuelle Reaktion der Lösung $p_H = 7.4$ (neutralrot als Indikator). Auch mit der stark alkalischen Lösung, die H. J. HAMBURGER und seine Mitarbeiter in der letzten Zeit bevorzugen, wurde gearbeitet. Die Resultate waren die gleichen wie mit gewöhnlicher Lösung.

Offenbar können alle radioaktiven Atome einander vertreten, vorausgesetzt, dasz man ihre Mengen in der Weise reguliert, dasz sie unter sich ungefähr radioäquivalent sind. Später wurde auch die freie Bestrahlung des Kaltblüterventrikels aus unmittelbarer Nähe mit schwachen radioaktiven Präparaten hinzugefügt, erst die Strahlung von in dünnem Glas eingeschlossenen Mesothorium [2]), dann Radium unter dünnem Glimmer [3]), schlieszlich Polonium, auf Kupferblech galvanoplastisch niedergeschlagen [4]).

---

[1]) Für Warmblüter wurde die Dosierung des Kaliumchlorids zwischen 100 und 450 mg pro Liter, die Dosierung des Uranylnitrats zwischen 15 und 60 mg pro Liter benutzt.

[2]) H. Zwaardemaker, C. E. Benjamins, T. P. Feenstra, Ned. Tijdschr. v. Gen. 1916. Vol. II. p. 1023 (10. Nov. 1916). Während der Bestrahlung wurde ununterbrochen mit kaliumfreier Ringerlösung durchströmt.

[3]) H. Zwaardemaker, K. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, 31. März 1917. Proc. Vol. XIX. p. 116.

[4]) 22. Nov. 1917, später H. Zwaardemaker und G. Gryns, Arch. néerl. de Physiol. 1918. T. II. p. 500. Auf ununterbrochene Durchströmung mit

Fig. 1 [1]). Restauration der Pulsation auf Uran-Ringer.

Froschherz, Symeskanüle Suspension, zur Ruhe gekommen auf Null-Flüssigkeit, beginnt seine Pulsationen von neuem, 2 Minuten nachdem man bei *u* die Null-Flüssigkeit vertauscht hat für eine mit 8 mg Uranylnitrat pro Liter Ringersche Flüssigkeit. Zuvor waren (ganz am Rande über dem Zeichen „0") zwei mechanische Berührungen ohne Erfolg geblieben. Die Wiederherstellung der Bewegung fand mit einer Treppe und mit zwei eingeschobenen Pausen (von 3 bzw. 2 Minuten) statt. Die Frequenz ist in der ersten Gruppe ungemein rasch, in der zweiten Gruppe bedeutend langsamer und wächst, nachdem die Systolen endgültig begonnen sind, allmählich an. Wenn die optimale Frequenz erreicht ist, entwickelt sich scheinbar eine Kontraktur, die jedoch in Wahrheit auf einer Inkonsequenz zwischen der Dauer der Erschlaffungsperiode und dem Eintreffen der neuen Systole beruht. Auf der untern Linie sind mittels eines Tropfenzählers von einem Pfeilsignal die durchströmenden Tropfen markiert. Die Schreibfläche bewegte sich mit einer Geschwindigkeit von $^1/_3$ cm pro Minute. In der Figur entspricht 1 cm der Abszisse 2.6 Minuten. Das Herz setzte seine Bewegungen in der aufgeschriebenen Weise noch ein paar Stunden fort. Dann wurde der Versuch abgebrochen.

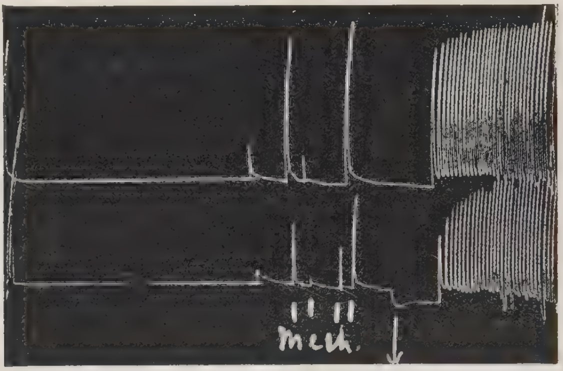
Damit der Leser einen Eindruck von der Stärke der verwendeten Präparate bekomme, sei mitgeteilt, dasz sie eine Kultur leuchtender Bakterien an der von der Strahlung getroffenen Stelle zur absoluten Sterilität brachten. Die Entfernung zwischen Kultur und Präparat dürfte dabei nicht gröszer genommen werden als 1 cm, was vollkommen übereinstimmt mit den Entfernungen, die bei den Versuchen am Kronecker-Forschherz beibehalten werden muszten. Die erneuerte Automatie zeigte sich dann bei einer Bestrahlung von 1.5 Milligramm-Stunde. Während der Bestrahlung wurde der Ventrikel unausgesetzt von kaliumfreier S. RINGERscher Lösung durchströmt. Bestrahlungen mit starken, in Platin eingeschlossenen Präparaten, wie man sie in den chirurgischen und gynäkologischen Kliniken zur Karzinombehandlung antrifft, haben, so viel ich weisz, physiologisch kein Resultat ergeben. Es kommt offenbar auf ganz weiche Strahlungen an. Ob es möglich sein würde, mit härtern Strahlen in genau angepasten Dosierungen etwas zu erreichen und ob auch vielleicht Gamma-Strahlen durch die von ihnen geweckte Sekundärstrahlung etwas Physiologisches auszuwirken imstande seien, darüber habe ich keine Erfahrung.

---

kaliumfreier Ringerlösung wurde genau zugesehen. Unter den zur Bestrahlung verwendeten Präparaten waren sowohl Alpha- wie Betastrahler: Mesothorium ist reiner Betastrahler, Radium hinter Glimmer ebenfalls, Polonium ist reiner Alphastrahler. Man vgl. E. Rutherford in Marxs Handb. der Radiol. 1913. Bd. II.; A. Geiger in Graetz' Handb der Elektriz. und des Magnet. 1914. III. St. Meyer und v. Schweidler. Radioaktivität. Berlin 1916.

[1]) Man vergleiche die Abb. in art. 12 dieses Bändchens.

Die Divergenz zwischen Sommer- und Winterdosen ist sehr grosz. Weil es sich beim Haften der radioaktiven Elemente an den Zellen wahrscheinlich um umkehrbare Adsorptionen handelt, soll man nicht zu sehr auf die absoluten Zahlen achten [1]). Diese geben die erforderliche Konzentration in der S. RINGERschen Lösung, aber die Konzentration an der Zellenoberfläche wird wahrscheinlich eine andere sein. Wenn dort eine Anreicherung der Ionen oder kolloidalen Komplexe durch Adsorption stattfindet, wird es aus der ver-



V

A

Th

Fig. 2. Restauration der Pulsation auf Thorium-Ringer.
Petromyzon fluviatilis, Herz in situ. Doppelsuspension, Kanüle von der Vena cava aus bis in den Sinus geführt. Nachdem das Organ auf Ringerlösung ohne Kalium zur Ruhe gekommen und keine latente Automatie anwesend war (5mal antwortete das Herz auf einen mechanischen Reiz mit einer Systole), wurde eine Ringerlösung ohne Kalium mit 40 mg Thoriumnitrat pro Liter zugelassen. Nach etwa einer Minute fangen die Pulsationen an. Oben Ventrikel, unten Atrium. Die Schreibfläche bewegte sich in einer Minute 1 cm; in der Figur entspricht 0.9 cm 1 Minute.

dünntesten Lösung relativ am stärksten geschehen. In Uebereinstimmung hiermit ist, dasz in der Tabelle die Sommer- und Winterwerte bei den sehr groszen Verdünnungen des Radiums viel mehr auseinandergehen als bei den geringeren, allerdings noch bedeutenden Verdünnungen des Rubidiums und des Kaliums.

Die im vorhergehenden zusammengetragenen Tatsachen sind ebensoviel Belege für die Richtigkeit des Gesetzes der radioäquivalenten Vertretung. Obgleich unter der Führung einer Theorie ent-

---

[1]) Eine Zusammenstellung der modernen Literatur über Adsorption radioaktiver Atome findet man bei H. Freundlich, Kapillarchemie, 2. Aufl. S. 298.

deckt, enthalten die Tatsachen an und für sich nichts Hypothetisches. Sie sind die blosze Wiedergabe von demjenigen, was die Natur zur Anschauung bringt, wenn man sie befragt. Ueberblicken wir das Gesamtresultat, soweit wir es bis jetzt kennen lernten, so

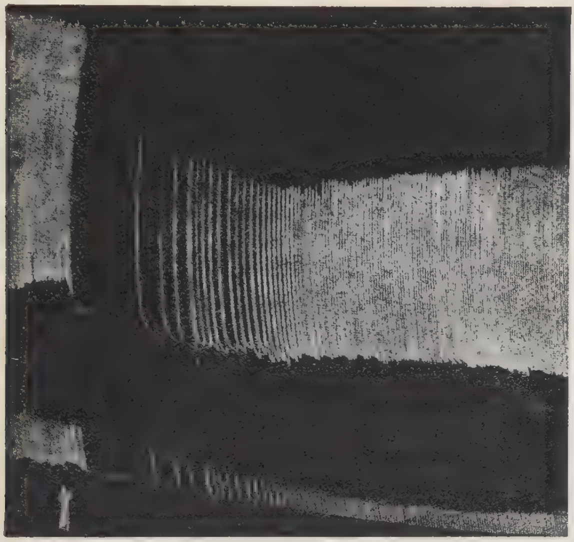


Fig. 3. Paradoxon K → Th.

Petromyzon fluviatilis, Herz in situ, Doppelsuspension. Kanüle von der Vena cava aus bis in den Sinus geführt. Oben Ventrikel, unten Atrium. Uebergang von 400 mg Kaliumchlorid pro Liter Ringerlösung auf eine Ringerlösung ohne Kalium mit 40 mg Thoriumnitrat pro Liter. Nach einigen Sekunden Stillstand. Wenn nach $1^1/_2$ Minute die Pulsationen wieder anfangen, ist die Frequenz erst sehr verlangsamt. Allmählich kehrt die ursprüngliche Frequenz zurück, um bleibend beibehalten zu werden.

Die Schreibfläche bewegte sich mit einer Geschwindigkeit von 1 cm pro Minute. In der Figur entspricht 0.9 cm einer Minute. 14. November 1922.

sehen wir die Alpha- und die Betastrahlung überall, wo sie in geeigneten Dosen angewendet werden, die gleiche restaurierende Wirkung ausüben, aber auch eine gleiche vernichtende Wirkung, wenn sie in hoher Dosierung auf irgendein Gewebe gerichtet sind.

Die Betastrahlung des physiologischen Elements, des Kaliums, ist eine korpuskulare Strahlung von Elektronen, einer Masse, die mehr als tausendfach leichter wie jene eines Wasserstoffatoms ist, negativ elektrisch geladen sehr bedeutende Geschwindigkeit hat, der Hälfte der Lichtgeschwindigkeit sich nähernd. Die Alphastrah-

lung hingegen ist eine Strahlung von geladenen Heliumatomen, einer Massa, viermal gröszer als jene des Wasserstoffatoms, positiv geladen, jedes Teilchen mit zwei elektrischen Einheiten, und von einer Geschwindigkeit, etwa $^1/_{20}$ der Lichtgeschwindigkeit entsprechend. Bis soweit ist alles sehr einfach, aber ist es so sicher, dasz das Vorzeichen der von den ausgeworfenen Teilchen getragenen Ladung physiologisch zu vernachlässigen sei? Hierdurch wird doch

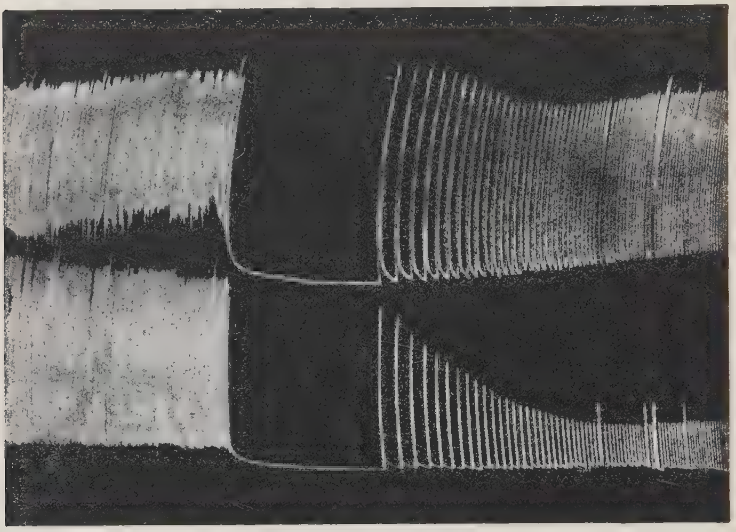


Fig. 4. Paradoxon Th → K.

Petromyzon fluviatilis, Herz in situ, Doppelsuspension. Eine Viertelstunde auf Thorium pulsierend. Kanüle von der Vena cava aus bis in den Sinus geführt. Oben Ventrikel, unten Atrium. Uebergang von einer Ringerlösung ohne Kalium mit 40 mg Thoriumnitrat pro Liter auf eine Ringerlösung mit 400 mg Kaliumchlorid pro Liter. Nach einigen Stunden Stillstand, mehr als 3 Minuten dauernd. Dann Herstellung der Pulsationen in allmählich anwachsender Frequenz.

Die Schreibfläche bewegte sich mit einer Geschwindigkeit von 1 cm pro Minute. In der Figur entspricht 0.9 einer Minute. 13. November 1922.

ein qualitativer Unterschied zwischen den beiden Strahlungen geschaffen, der möglicherweise für das Leben Bedeutung haben könnte. Ich habe in dieser Richtung nicht gefahndet, der blinde Zufall hat hier den Weg gezeigt.

Bereits im Anfang der Untersuchung wurde auf Erscheinungen gestoszen, die wir Paradoxe nannten und die, oberflächlich betrach-

tet, einen Einbruch auf das Gesetz der radioäquivalenten Vertretung bedeuten [1]). Wenn man der Reihe nach einem Alpha- und einem Betastrahler auf ein Organ einwirken läszt, es sei denn, dasz man abwechselnd in der Durchströmungsflüssigkeit alpha- oder betastrahlende Atome mitführt, oder verschieden strahlende Präparate von auszen anbringt [2]), so kommt es oft vor, dasz der Uebergang nicht ungestört stattfindet. Urplötzlich tritt ein Stillstand des Organs ein, und erst nach Sekunden oder Minuten erwacht die Automatie von neuem. Nicht in allen Fällen zeigen sich diese dem Beobachter sehr stark imponierenden Erscheinungen. Es sei gestattet, zum bessern Verständnis hier ein paar abzubilden (Fig. 4 und 5).

Zur Erklärung dieser sonderbaren Erscheinung habe ich 1918 die Arbeitshypothese aufgestellt, dasz in solchen Fällen ein Nullpunkt durchschritten wird, von wo aus ein sehr schroffes Ansteigen der Konzentration der plötzlich zugelassenen neuen Ringerlösung stattfindet. Sie hat sich als ein vorzüglicher Führer in allen spätern Versuchen gezeigt und brachte als erstes Resultat die Möglichkeit einer systematischen Herstellung von Gleichgewichten zwischen den beiden Strahlungsarten, die sozusagen den hypothetischen Nullpunkt von soeben ständig herbeischafften. Ein sehr niedriges Gleichgewicht dieser Art ist der Zustand, der im Herzen hervorgerufen wird, sobald man es mit einer Mischung zweier optimaler Lösungen, die eine des Alpha-, die andere des Betacharakters durchströmt, sodasz von beiden halbe Konzentrationen in den Lakunen des Organs vorhanden sind. Am leichtesten lassen sich die Gleichgewichte am isolierten Froschventrikel mittels weiter KRONECKERscher Kanüle auffinden, aber auch bei Umspülung des Froschösophagus und des Mäusedarms sind sie zutage getreten und an den vasomotorischen Synapsen lassen sie sich wieder systematisch darstellen [3]). Aus der Existenz der Gleichgewichte geht ein zweites Gesetz hervor, das beim ersten Anblick unabhängig vom ersten dasteht, und das ich das Gesetz des physiologischen Radioantagonismus nennen möchte. Alpha- und Betastrahler, obgleich von derselben physiologischen Wirkung, wenn in äquivalenten Mengen gesondert anwesend, vertragen sich nicht, wenn sie beide zur Hälfte

---

[1]) H. Zwaardemaker, K. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, 27. April 1917. Proc. Vol. 19. p. 1043. — C. R. Soc. de Biol. 1921. T. LXXXIV. p. 704.

[2]) H. Zwaardemaker, Pflügers Archiv. 1917. Bd. CLXIX. S. 122.

[3]) K. T. A. Halbertsma, Diss. Utrecht 1922. H. Zwaardemaker, Arch. néerl. de Physiol. 1920. T. IV. p. 177. L. Kaiser, Arch. néerl. de Physiol 1919. T. III. p. 587.

verdünnt zusammen vorhanden sind. Die Konzentration erhöhend, gehen auch die Gleichgewichte in charakteristischer Weise empor. Der Zustand, in welchem die Atome sich befinden (ionisiert oder in kolloidalen Komplexen), ist auch hier wieder ohne Belang, er hat blosz sekundäre Bedeutung. Auch die Emanation, obgleich ein chemisch vollkommen inaktives Gas, tritt in den Kreis der gegeneinander abwegbaren Antagonisten ein, weil sich nach beiden Seiten, sowohl beim Uebergang K → Em, als beim Uebergang Em → K ein vorübergehender Stillstand auftut [1]).

Sowie bei dem physiologischen Radioäquivalent die kinetische Energie der Teilchen ausschlaggebend war, tritt beim physiologischen Radioantagonismus die Ladung hervor. Ein Blick auf untenstehende Tabelle wird den Leser ohne weiteres überzeugen.

Physiologischer Radioantagonismus.

Betastrahler (negative Ladung)		Alphastrahler (positive Ladung)
Kalium Rubidium	——→	Uranium Thorium Ionium
Mesothorium Radium (unter Glimmer)	←——	Emanation Radium [2]) Polonium

Im Antagonismus macht das Zeichen der Ladung sich geltend. Die Ladung, positiv bei den Alphateilchen, negativ bei den Betateilchen, wird von den fortgeschleuderten Teilchen getragen und wahrscheinlich, so nimmt man an, der durchquerten Materie übertragen. Man hüte sich jedoch, zu viel Gewicht auf die statisch elektrischen Erscheinungen zu legen, denn die Menge der übertragenen Elektrizität ist verschwindend klein. Ein Gramm Radium verliert pro Sekunde 50×10^{10} Teilchen, unsere Radiumdosis in einem Liter also pro Sekunde 186. Wie viele durchqueren das Herz? Es ist wegen der Anreicherung des Radiums im durchströmten Organ durch die dort sicher vorhandene Adsorption unmöglich, hierüber ein gesichertes Urteil zu haben. In einem durchströmten Forschherz befinden sich einige Tröpfchen radiumhaltiger Flüssigkeit, sodasz, wenn wir allein hiermit rechnen, im Organ selbst noch nicht jede

---

[1]) Man vgl. eine Abbilding bei J. B. Zwaardemaker. Diss. Utrecht 1922.

[2]) In einer Durchströmungsflüssigkeit ist erfahrungsgemäsz die Alphastrahlung ausschlaggebend.

Sekunde ein Teilchen abgefeuert wird [1]). Aber es ist wahrscheinlich, dasz an der Oberfläche der Zellen besonders viele Radiumatome vorhanden sind, denn eine Absorption radioaktiver Ionen an die Wände des Behälters ist etwas ganz Gewöhnliches. Dann ist es sehr wohl möglich, dasz eine hundert-, ja tausendfache Menge an den Zellen haftet. Halten wir uns jedoch an die kleinste denkbare Zahl, damit wir uns keine übertriebenen Vorstellungen machen. Die Auswirkung, die wir unter unsern Augen zustande kommen sehen, musz dann auf Summierung beruhen. Fügen wir jedoch viele solcher Uebertragungen zusammen, so bildet die Summe dennoch blosz eine ganz unbedeutende Menge, noch abgesehen von der Unwahrscheinlichkeit, dasz die übertragene elektrische Energie sich an Ort und Stelle des Einschlagens würde anhäufen können. Wir haben daher unsere Aufmerksamkeit der Wirkung des sich fortbewegenden, geladenen Teilchens längs seiner Bahn zuzuwenden. Die Vorstellung der Physiker ist, dasz schlieszlich die Gesamtenergie des Teilchens im Momente des Abfeuerns das Maszgebende ist. Auf seiner Bahn wird diese Energie allmählich erschöpft und nach vollzogener Bremsung ist nichts mehr übrig. Es ist fast undenkbar, dasz die auf dem Weg durchquerten Zellen davon unbeeinfluszt bleiben würden. Die Alphateilchen des Poloniums haben GRYNS und ich durch Gewebsschichten von 10 μ und mehr passieren sehen, indem sie an der andern Seite durch Scintillierung auf einem Zinksulfidschirmchen (Methode REGENER) sich verrieten. Alle solchen Wirkungen werden der vom Teilchen anfänglich getragenen Energie, das heiszt unserer Radiumdosis von 3 Mikromilligramm pro Sekunde 4.10^{-3} Erg, entnommen. Rechnen wir ausschlieszlich mit den 2 Tröpfchen pro Sekunde, welche durch das Herz flieszen, so käme zur Reizung der durchquerten Zellen im minimo eine Menge Energie von etwa 4.10^{-7} Erg pro Sekunde zur Verfügung. In unserem Fall wird übrigens die Energie nicht kontinuierlich abgegeben, sondern in Quanten von ziemlicher Grösze, etwa 10^{-5} Erg; dabei schafft das vorbeischiessende Teilchen im Vorüberfliegen längs der ganzen Bahn wahrscheinlich an vielen Stellen eine eingreifende Veränderung, so wie es längs der photographischen Platten schiessend, seinen Weg durch eine Reihenfolge von vielen Punkten verzeichnet. Wegen der Unregelmäszigkeit des Tempos scheint eine Anpassung des Gewebes ausgeschlossen. Uebrigens, wenn man sich an den Sekundenwert hält, so ist 4.10^{-7} Erg pro Sekunde eine

[1]) Es handelt sich augenblicklich allein um Alphateilchen. Gleichzeitig wird aus dem Kalium der doppelbrechenden Strukturen eine Betastrahlung ausgehen, die wahrscheinlich die Auswirkung des Alphaelements verringert.

Energiemenge, die den Schwellenwert unserer höhern Sinnesorgane bereits übertrifft. Für das Auge[1]) genügt, um eine Reizung hervorzurufen, pro Sekunde 0.5×10^{-10} Erg, für das Ohr 0.4×10^{-8} Erg[2]).

Noch einmal sei ausdrücklich hervorgehoben, dasz es sich in dieser ganzen Betrachtung nur um Minimumwerte handelte. Vielleicht sind der Adsorption wegen die Beträge pro Sekunde viele Male gröszer.

In unsern Betrachtungen war bis jetzt blosz von den physikalischen Eigenschaften der physiologischen Radioaktivität die Rede; mit dem Zustand des Organs, das einer vom normalen abweichenden Radioaktivität ausgesetzt wurde, beschäftigten wir uns nicht. Es sei gestattet, diese Lücke hier auszufüllen.

Ein Organ, das durch *permanente* kaliumfreie Durchströmung oder *permanente* Umspüling eines Teiles seines Gewebskaliums und gänzlich seines zirkulierenden Kaliums beraubt wird, kommt dadurch in einen sehr unnatürlichen Zustand.

In ersterer Linie ist in der Umgebung seiner Zellen die sog. Balancierung der Ionen durchbrochen: die Natrium-, Kalium- und Calciumionen halten sich gegenseitig nicht mehr die Wage. In zweiter Linie ist das Gegengewicht zur tonisierenden Wirkung des Calciums ungenügend geworden; normaliter bewirken die zahlreichen Natriumionen und die wenigen Kaliumionen eine leichte Tonolyse und weil bei gleicher Zahl von den Kaliumionen in dieser Hinsicht ein stärkerer Einflusz ausgeht als von den Natriumionen [3]), entsteht ein zu Wenig an Tonolyse, sodasz sich ganz allmählich eine Kontraktur entwickelt. In dritter Linie verlassen auf die Dauer die Kaliumatome auch die fixen Verbindungen im Inneren der quergestreiften Substanz. Es verringert sich dort der Vorrat derselben, sodasz eine Rückwirkung auf die Kraft der Kontraktion schlieszlich nicht unterbleiben wird. Es entwickelt sich eine Hypodynamie, die durch Lezithin, oleinsaures Natron usw. nicht gehoben werden kann, sondern blosz weicht für eine Restitution des in den doppelbrechenden Strukturen gespeicherten Kaliums[4]).

---

[1]) V. Henri und Larguier des Bancels, Journ. de Physiol. norm. et Path. Nov. 1911. p. 811. Sie stützen ihre Berechnungen auf Beobachtungen von Gryns und Noyons aus meinem Institut.

[2]) H. Zwaardemaker, Leerb. der Physiol. Bd. II. 3. Aufl. S. 355.

[3]) Ich hoffe hierauf in meinem Rapport an die Soc. de Biologie de Paris zurückzukommen.

[4]) Der Grund, weshalb die Abwesenheit des Kaliums im Embdenschen Kraftmetabolismus eine Inotropie hervorruft, ist nicht klar: J. B. Zwaardemaker, Diss. 1922. S. 57 sucht sie auf herabgesetzte intramurare Leitung zurückzuführen.

Wir haben versucht, diesen Nachteilen einigermaszen vorzubeugen. DR. FEENSTRA berechnete für uns die kleine Zugabe Lithiumionen, die nach seiner Theorie das Gleichgewicht der Ionen wieder herstellen kann; Prof. NOYONS gab die Menge des Chlorammoniums an, welche unsern Herzen die chemische Eigentümlichkeit des Kaliums zurückzugeben hatte; wir verringerten die Konzentration des Calciums und erhöhten jene des Natriums in der Hoffnung, hiermit von der Seite des Calciums weniger Tonizität, von der Seite des Natriums mehr Tonolyse zu bekommen. Viel wirkten diese Masznahmen bis jetzt nicht aus, aber es kann sein, dasz wir die immerhin doch artifiziellen Umstände noch ungenügend beherrschen. Die Periode der kaliumfreien Durchströmung blieb in den Versuchen immer eine mehr weniger verhängnisvolle Zeit und auch später, wenn die Pulsationen durch einen der radioaktiven Vertreter zurückgekehrt waren, und manchmal auch die Balancierung ziemlich befriedigend hergestellt [1]), wurde der Zustand nicht immer günstig. Die neu hervorgerufenen Kontraktionen unterhielten zwar eine reichliche Durchströmung, besorgten infolgedessen eine gute Sauerstoffernährung, aber, wenn im Laufe der Zeit die Kontraktur eintrat und eine Hypodynamie sich entwickelte, wurden die Verhältnisse ungünstig. Das richtigste Fortarbeiten der Herzen bekommt man in der ersten Zeit der artifiziellen Automatie zu beobachten und blosz unter glücklichen Umständen fährt das Herz noch 1, 2, 3 usw. Stunden in voller Regelmäszigkeit und voller oder leidlicher Kraft zu pulsieren fort.

Unter den artifiziellen Automatien ist jene des Rubidiums die günstigste. Sie weicht nur sehr wenig von der natürlichen Kaliumautomatie ab. Der Grund liegt wahrscheinlich in der chemischen Verwandschaft des Rubidiums mit dem Kalium, sodasz es imstande ist, auch in den fixen Verbindungen innerhalb der Zelle einzutreten [2]). Auch die Balancierung läszt sich mit Rubidium besonders leicht herstellen und als Tonolyticum weicht es nicht zu sehr von Kalium ab.

Unter den Alphaautomatien ist die von Thorium besorgte die Beste. Erstens ist es möglich, in der RINGERschen Lösung eine neue Balancierung der Ionen zustande zu bringen. Zweitens hat das Thoriumion einen verhältnismäszig geringen tonisierenden Einflusz, so

---

[1]) Uran und Thorium sind imstande, in geeigneten Dosen die Balancierung der Ionen wieder herzustellen; mit Radium, Ionium, Emanation bleibt auch bei Wiederherstellen der Automatie die Balancierung gestört.

[2]) Man vgl. Mitchell und Wilson a. a. O.

dasz die Entfernung des Kaliums in dieser Hinsicht keinen Nachteil bringt. Drittens hat das Thorium augenscheinlich auf das innere der Zelle keinen toxischen Einflusz. Schade ist es, dasz die Thoriumnitratlösung in RINGERscher Flüssigkeit wegen der leicht alkalischen Reaktion derselben nicht haltbar ist. Der Versuch kann also blosz ein paar Stunden fortgesetzt werden, aber während dieser Zeit ist die neugewonnene Automatie befriedigend [1]). Dieselbe Instabilität macht sich bei Ionium, Radium und bei Emanation geltend. Auch mit diesen Stoffen lassen sich die Versuche für gewöhnlich nicht länger als eine Stunde fortsetzen.

Die Uranautomatie ist die anhaltendste, weil die Uransalze in der RINGERschen Lösung noch am besten gelöst bleiben, auch wenn man mit Neutralrot als Indikator sorgfältig neutralisiert. Nur im Hochsommer wird man bei hohen Dosen von Präzipitationen gestört. Ueber 50 mg Uranylnitrat pro Liter soll man jedoch nicht hinausgehen. Hierzu besteht zwar bei gewöhnlichen Versuchen keine Veranlassung, weil auch die Winterdosen selten bis zu 30 mg. pro Liter erhöht werden sollen, aber beim Aufsuchen von Gleichgewichten zwischen Kalium- bzw. Rubidium und Uran kann es vorkommen, dasz man, immer höhere Dosen gegeneinander aufwiegend, zuletzt in die instabilen Zonen hineingerät und weitere Zusätze des Uraniumsalzes nicht mehr nützen. Schade ist es, dasz die Uranautomatie, obgleich die meist anhaltende, für das Herz auch die schädlichste ist. Hauptsächlich ist die tonisierende Wirkung der Uranylionen daran Schuld. Infolgedessen werden auf die Dauer die Lakunen der Herzwand weniger durchgänglich, die Durchströmung unvolkommen, die Sauerstoffernährung leidet und die Kraft des Herzens nimmt ab. Im vollen Tageslicht ist diese tonisierende Wirkung stärker als im Dunkel, aber auch hinter rotem Glas oder in vollständiger Finsternis läszt sie sich nicht gänzlich vermeiden. Wenn jedoch das Calcium fortgelassen wird, ist auch die tonisierende Wirkung des Urans zu Ende. Zur praktischen Benutzung empfiehlt sich diese Masznahme natürlich nicht, denn obgleich die Abwesenheit des Calciums an und für sich die Automatie nicht schadet (das Elektrogramm fährt fort), so ist sowohl die Balancierung durchbrochen als die massale Kontraktion unmöglich geworden, die elektrische Kontrolle als einzige Beobachtungsmethode übriglassend.

Es lohnt sich gewisz, die unter dem Einflusz radioaktiver Elemente mit positiv geladener Strahlung entstandene Automatie genau

---

[1]) A. M. Streef, Onderz. Physiol. Lab. (5) Bd. XIX. S. 1.

zu studieren. Während der ersten Viertelstunde steht hieran nichts im Wege und wir werden uns daher hauptsächlich auf graphische Aufnahmen aus dieser Periode zu stützen haben. Alle radioactive Atome Uran [1]), Thorium [2]), Ionium [3]), Radium [4]), Emanation [5])) sind für diese Periode gleich geeignet.

Im Anfang unserer Untersuchungen haben wir uns auf das Studium der Automatie des Froschventrikels beschränkt, weil mir die KRONECKERsche Durchströmungsmethode eine besonders geeignete für unsern Zweck erschien. Die Weite des Aufströmungskanals gestattet eine ausgiebige Entleerung der Lakunen, die bei der auffolgenden Dilatation unmittelbar von neuer RINGERscher Flüssigkeit gefüllt werden. Manchmal gehen die Systolen von der Vorkammerseite der Atrioventrikulargrenze aus (bei Extrasystole kompensatorische Pause) manchmal sind es langsame, echt idio-ventrikulare Systolen. Beide sind für die Versuche geeignet. Später habe ich auch Symespräparate oder vollständige Herzen in situ genommen. J. B. ZWAARDEMAKER [6]) hat diese Untersuchung sehr systematisch durchgeführt; Sinus, Vorkammer, Kammer und Bulbus gleichzeitig registrierend. Alle Teile sind gleich empfindlich für die Radioaktivität, blosz wenn in der Nähe der Minimum- und Maximumdosen negative Dromotropien vorkommen, beobachtet man Ungleichheit. Es sei in dieser Hinsicht auf die zitierte Arbeit hingewiesen. Fast alle Klassen der Wirbeltiere sind jetzt untersucht worden: Cyclostome, Fische, Batrachier, Repitilien, Säuger. Die Herzen aller dieser Tiere gehorchen den gleichen Gesetzen. Auch die erforderlichen Dosierungen weichen unter sich wenig ab, obgleich man bei Kaltblütern auf Saisonunterschiede gefaszt sein soll. Man siehe übrigens unsere Tabelle.

Am bequemsten arbeitet man mit Petromyzon, Aal und Frosch. Die gewöhnliche Frequenz der Systolen des ersten Tieres ist sehr grosz. Das Herz neigt zwar zu Unregelmäszigkeiten: Extrasystolen bei der Untersuchung in situ usw.; es ist aber wenig em-

---

[1]) T. P. Feenstra, Onderz. Physiol. Lab. Utrecht (5). Bd. XVI. p. 137. H. Zwaardemaker, Journ. of physiol. 1921. Vol. LV. p. 33.

[2]) T. P. Feenstra, K. Akad. v. Wetensch. 27. Mai 1916. — Derselbe, Onderz. Physiol. Lab. Utrecht (5). Bd. XVII. S. 146.

[3]) W. H. Levend, Onderz. Physiol. Lab. Utrecht (6). Bd. II. S. 162.

[4]) H. Zwaardemaker, K. Akad. v. Wetensch. 30 Sept. 1916. Proc. Vol. XIX. p. 633.

[5]) Derselbe und T. P. Feenstra, C. R. Soc. de Biol. 1921. T. LXXXIV. pag. 377.

[6]) J. B. Zwaardemaker, Diss. Utrecht 1922.

pfindlich für zu niedrigen oder zu hohen Dosierungen. Das Herz des Aales zeichnet sich durch grosze Kraft und Ausdauer aus. Es läszt sich in situ ausgezeichnet verwenden. Das Froschherz empfiehlt sich im Winter; im Sommer ist die Kaliumdosis, welche für ein individuelles Herz am geeignetesten ist, oft schwer aufzufinden [1]), wenigstens war es in Utrecht der Fall. Hat man einmal die Kaliumdosis gefunden, so ergeben sich hieraus die Dosen der Vertreter. Bei Uransalzen gehe man von $^1/_{10}$ der Kaliumdosis, bei Thoriumsalz von $^1/_5$ der Kaliumdosis aus und suche hinab- und hinaufgehend die optimale Dosierung. Mit letzterm Namen will ich die Dosis andeuten, die der höchsten noch regelmäszigen Frequenz entspricht. Die Temperatur konstant haltend, sieht man von der minimalen mit dieser Automatie verträglichen Kaliumdosis bis zur optimalen Kaliumdosis aufsteigend, die Frequenz fast linear zunehmen. Das gleiche beobachtet man bei Uran. Ist die optimale Dosis erreicht, dann ergibt weiteres Ansteigen eine Herabsetzung der Frequenz.

Weil die Frequenz, die periodische Zeit also, wohl die am meisten charakteristische Eigenschaft einer Periodik ist, will ich die beiden Automatien, die Beta- und die Alphaautomatie, in erster Linie in dieser Hinsicht vergleichen. Hierzu würden sich am rationellsten die Zeitpunkte optimaler Frequenz empfehlen, wenn das Feststellen derselben nicht so langes Hin- und Herprobieren erforderte. Auszer der Temperatur, der Dosis des radioaktiven Elements und der Geschwindigkeit der Durchströmung übt auch die Zeit ihren Einflusz aus. Es ist gar nicht notwendig, sich dazu in mystische Ueberlegungen zu begeben, denn mit der Zeit geht eine Ausspülung des Depotkaliums einher. Auch werden zuvor zustande gebrachte Adsorptionen nicht verfehlen, ihre Nachwirkungen auszuüben. Die Vorgeschichte braucht daher nicht immer in gleichem Sinne einzugreifen. Es kommt vor, dasz nachmittags die optimalen Dosierungen höher bei gleicher Temperatur und auch niedriger liegen. Wahrscheinlich hat man auszer mit der Temperatur noch mit der Ausspülung von hormonartigen Stoffen [2]) (Cholin, Adrenalin) zu rechnen. Wie an anderer Stelle mitgeteilt, haben Cholin und Adrenalin eine sehr eingreifende Bedeutung für die unter radioaktivem Einflusz stehenden Automatien. Wahrscheinlich werden sie also auch für die optimalen Dosen mitbestimmend sein. Wie an anderm

---

[1]) Man vgl. übrigens S. de Boer. Onderz. Physiol. Labor. Utrecht (5). Bd. XIX. S. 254.

[2]) H. Zwaardemaker, K. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, 25. Sept. 1920. Proc. Vol. XXIII. p. 838.

Ort ausgeführt, hängen diese Wirkungen, durch Cholin, Adrenalin usw. ausgeübt, mit den Aenderung zusammen, die sie in den Adsorptionen hervorrufen. Die radioaktiven Atome haften sich besonders stark an Adsorbentia, und wie ich glaube, hat man das gleiche für die Grenzfläche unserer Zellen anzunehmen. Auch Fluoreszein und Eosin haften sich an diesen Grenzflächen und ebenso Cholin und Adrenalin. Es kann daher kein Wunder nehmen, dasz neben Adsorptionsverstärkungen Adsorptionsverdrängungen stattfinden, wie wir an Modellversuchen dargetan haben, und manche Erscheinung auf radio-physiologischem Gebiet sich von diesem Gesichtspunkt aus in einfachster Weise erklärt. Hier wollen wir uns darüber jedoch nicht verbreiten, weil wir die Frequenzfrage in anderer Richtung nähertreten werden.

Bis jetzt haben wir in einer nicht sehr groszen Zahl von Fällen bei optimaler Dosierung, die übrigen Bedingungen konstant erhaltend[1]), die Alpha- und die Betafrequenz vergleichen können. Bald entsprach die eine, bald die andere einer gröszern Frequenz, bald waren die beiden Frequenzen einander vollkommen gleich. Aus diesem Resultat geht hervor, dasz es manchmal möglich sein musz, ein Herz (Kronecker-, Symes- oder Sinusherz) von Kalium auf Uran oder von Uran auf Kalium übergehen zu lassen, ohne die Frequenz sich ändern zu sehen.

Das Merkwürdige dieses Verhaltens ist, dasz weder im Optimum noch vor und nach den meisten Paradoxen, die Frequenzen der Alpha- und der Betaautomatien stark auseinandergehen. Ausnahmen kommen zwar vor, aber für gewöhnlich ist der Unterschied nicht grosz. Wenn eine Verschiedenheit vorliegt, ist die Uran- oder Thoriumfrequenz im Anfang unmittelbar nach dem Uebergang vergröszert. Man kann versuchen, diese temporäre Ueberlegenheit der Uranfrequenz aus einer plötzlichen vorübergehenden Verstärkung der Adsorption radioaktiver Ionen zu erklären, dann ist man in Uebereinstimmung mit dem soeben beschriebenen Parallelgehen von Dosierung und Frequenz, aber wir wollen unbewiesene Voraussetzungen vermeiden und lieber annehmen, dasz die Adsorption die gleiche bleibt, obgleich eine gewisse Wahrscheinligkeit vorliegt, dasz die Adsorption der Alphaelemente die ausgiebigere sei. Sieht

---

[1]) Hierin wurde das Kaltblüterherz in einem von der Wasserleitung auf konstanter Temperatur gehaltenen Thermostat aufgenommen, in einem festen Tempo von Null auf Maximum geschritten und die Durchströmung mittels eines Tropfenzählers registriert. Ueber diese zusammen mit H. Zeehuisen ausgeführte Untersuchung wird an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.

man von den Adsorptionen ab, so musz das mittlere Intervall zwischen den einander auffolgenden radioaktiven Explosionen in der Alphaautomatie gröszer sein als in der Betaautomatie, und kann die Frequenz der Pulse nicht unmittelbar mit dem Strahlungsintervall zusammenhängen. Die quantierten Energieübertragungen, jedesmal zur Grösze van 1.0^{-5} Erg. haben so an ein kontinuierlich erregtes System anzugreifen, dessen Eigenperioden unabhängig von der Strahlung von mechanischen und chemischen Momenten beherrscht werden.

Eine zweite Haupteigenschaft einer Periodik ist die Verteilung der Phasen der Veränderung über die Zeit einer Periode. In unserem Fall wechseln für jedes Herzteil Systole und Diastole miteinander ab und zwar so, dasz die Systole etwas weniger Zeit in Anspruch nimmt als die Diastole. Diese Verhältnisse lassen sich sowohl am Mechanogramm als am Elektrogramm genau verfolgen. Am erstern fesseln auch noch die Uebergänge unsere Aufmerksamkeit, namentlich der Uebergang von der Systole zur Diastole, der in der Graphik sich mehr spitz oder gerundet zeigen kann. Ebenso geschieht das Anschwellen bzw. das Abklingen der Zusammenziehung nicht immer in derselben Weise. In der elektrischen Herzschrift haben wir uns wieder mit anderen Aeuszerungen zu beschäftigen. Die Verteilung der Gifpel *R* und *T*, bei direkter Ableitung von der Herzoberfläche studiert, kann auch die bei einfacher Durchströmung mit normaler Ringer-Flüssigkeit grosze Verschiedenheit darbieten [1]). Um so weniger kann es wundern, dasz auch die Alphaautomatie dem Elektrogramm kein uniformes Bild verleihen wird.

Fig. 5 [2]). Mechanogramm und Elektrogramm.
Aalherz in situ, Symeskanüle, Suspension des Ventrikels. Oben Mechanogramm, unten Elektrogramm. Horizontale Linie gibt die Zeit in halben Sekunden. 1 = Kaliumdurchströmung, 2, 3, 4 = Elektrogramme in verschiedenen aufeinanderfolgenden Zeitpunkten einer Ioniumdurchströmung, 5 = Kaliumdurchströmung.
Die Ioniumlösung enthielt in einer Ringerflüssigkeit ohne Kalium 0.6 mg kolloidales Ioniumthoriumhydroxyd. Nach Slooff.

Meistens jedoch entwickelt sich unter Verschiebung des *T*-Gipfels nach hinten ein sehr tiefes Tal zwischen den *R*- und *T*-Gipfeln, ein Tal, das ziemlich gerundet ist und viel später kommt als der normale *S*-Gipfel. Höhenwechsel und Umkehrungen der Gip-

[1]) A. Samojloff, Pflügers Archiv. 1910. Bd. CXXXV. S. 417.
[2]) Verg. Onderz. 6e Reeks. Deel 3. p. 169.

fel sind ferner sehr gewöhnlich.

Nicht blosz bei Rana, auch bei Petromyzon herrschen diese Formen [1]).

Unter günstigen Umständen und im Anfang einer Durchströmung mit Alpha-Ringerflüssigkeit wird, wie ich glaube, weder das Mechanogramm noch das Elektrogramm einen abweichenden Typus zeigen. Erst nach einiger Zeit treten Veränderungen ein. Solche zeigen sich im Elektrogramm früher als im Mechanogramm.

Betrachtet man das Elektrogramm vor und nach einem gut gelungenen Paradoxon, so bekommt man die gleiche Form und die gleiche Grösze der Saitenausschläge zu sehen. Das trifft auch noch zu, wenn man durch Calciumentziehung das massale Mechanogramm fortgenommen hat und das Elektrogramm allein übrig geblieben ist.

Eine sehr oft im Mechanogramm vorkommende Aenderung ist eine Dehnung der diastolischen Phase der Perioden. Wenn in einem Fall die Frequenz dieselbe bleibt, kann sich eine Erscheinung zeigen, die J. B. ZWAARDEMAKER [2]) Interzeption nannte, d. h. noch bevor die diastolische Erschlaffung vollständig geworden, erfolgt bereits die neue Systole. Wenn dasselbe sich das nächste und die folgenden Male wiederholt, werden die Fuszpunkte der Kurve ein höheres Niveau einnehmen, während die Gipfel in der alten Höhe geblieben sind. Bei oberflächer Betrachtung imponiert eine solche Erscheinung als eine Kontraktur, wovon sie sich jedoch unterscheidet durch das unmittelbare Absinken des Fuszpunktniveaus, wenn aus irgendeinem Grunde die Frequenz abnimmt. Nicht bei jedem Schlag braucht die Dehnung der Diastole sich zu äuszern. Es kommt auch vor, dasz sie blosz jeden zweiten Schlag sichtbar wird. Dann hat man abwechselnd eine Interzeption und eine bis zu Ende geführte Diastole. Auch die Systole kann sich dehnen und wenn die Frequenz dieselbe bleibt, kann eine systolische Interzeption und dadurch eine Abnahme der Hubhöhe die Folge sein. Diese Erscheinung täuscht eine negative Inotropie vor, von der wahren negativen Inotropie durch plötzliches Anwachsen der Hubhöhe zu unterschieden, wenn durch irgendeine Ursache die Frequenz abnimmt.

Wenn man nicht den vereinzelten Herzteil (Sinus, Vorkammer,

---

[1]) Ueber das Elektrogramm des Frosches, siehe bei Slooff, Diss. Utrecht 1922, über jene des Petromyzons J. B. Zwaardemaker, Diss. Utrecht 1922. S. 19.

[2]) J. B. Zwaardemaker, Diss. Utrecht 1922. S. 20; von „interceptio" = Wegnahme.

Kammer, Bulbus) ins Auge faszt, sondern Vorkammer und Kammer oder Sinus, Vorkammer und Kammer in Zusammenhang betrachtet, können sich Leitungsstörungen auftun. Bei gut getroffenen Dosierungen sind sie verhältnismäszig selten. Oft begegnet man ihnen jedoch bei Uebergängen von einem Alpha- auf einen Betazustand oder umgekehrt.

In der maximalen Kraft der Zusammensetzung findet man manometrisch bestimmt keinen Unterschied. Am schärfsten findet dies seinen Ausdruck an den zwei Seiten eines gut gelungenen Paradoxons. Dann endigt urplötzlich, wie man sich erinnert, die Pulsation. Sowohl Elektrogramm als Mechanogramm sind im gleichen Moment vollständig verschwunden, um einige Augenblicke später beide wieder ebenso urplötzlich zurückzukehren. Die Ausschläge eines mit der Aorta verbundenen Manometers sind vor und nach gleicher Höhe, mit schroffem Uebergang von allem zu nichts und umgekehrt [1]).

Wie soeben bemerkt, jedes Element drückt auf die Dauer sein eignes Gepräge auf die Form der Zusammenziehung. Namentlich Uran ist ziemlich eingreifend. Zwar begegnet man Fällen, die sogar nach 1, 2, 3 Stunden noch keine Aenderungen zeigen auszer einer Hypodynamie, die vielleicht ebenso eingetreten sein würde, wenn man mit einem Kalium-Ringer durchströmmt hätte, meistens jedoch wird die Diastole sich etwas verlängern, namentlich der letzte Teil derselben. Wenn inzwischen die Frequenz dieselbe geblieben ist, entsteht wegen der Dehnung der Diastole eine bedeutende Interzeption .Auch die Systole kann, namentlich am Schlusz derselben, etwas gedehnter werden, sodasz die Gipfel der Systolen sich in der Graphik gerundet vortun. Leichte Umgleichheiten der Hubhöhen kommen vor. Das ganze Gebiet ist noch wenig durchforscht. Namentlich die Inotropie erfordert dringend ein eingehendes Studium. Oft ist sie anfangs positiv und später negativ. Was der Grund aller dieser Erscheinungen ist, läszt sich schwer überblicken. Möglicherweise beruht ein Teil derselben auf einer Verdrängung des Calciums von der Oberfläche oder einer Präzipitation desselben an diesen Stellen. Da der Einflusz des Calciums so auszerordentlich grosz ist auf die Zusammenziehung, liegt die Vermutung auf der Hand, eine Beziehung zur Calciumfunktion zu suchen, um so mehr als das Uran in seiner Wirkung quantitativ besonders von der gleichzeitig in der Durchströmungsflüssigkeit

---

[1]) Eine Abbildung dieser Art findet man in Klinische Wochenschrift 1922. S. 594.

vorhandenen Menge Calcium abhängig ist (Balancierung des Urans gegenüber Calcium[1]); quantitativ nahezu linear; Beeinflussung der Gleichgewichte durch Calcium)[2]).

Weniger eingreifend sind die Aenderungen in der Form der Zusammenziehung, die das Thorium hervorruft. Je nach der Tierart existieren jedoch Besonderheiten. Beim Petromyzon z. B. ist eine anfangs nicht unbedeutende positieve Inotropie auffallend, beim Aal ist diese Aenderung weniger ausgedrückt. Das Element schadet so wenig, dasz man ein paar Stunden hintereinander auszerordentlich ausgiebig, eine fast normale Systole beobachten kann. Leider entstehen auf die Dauer immer Präzipitationen.

Fig. 6. Froschherz. Symeskanüle.
5 Minuten nach der kurzen Unterbrechung durch Verschiebung der Schreibfläche, die als Signal dient, ist ein Kalium-Ringer (135 mg KCl pro Liter) vertauscht für ein Uran-Ringer (7 mg Uranylnitrat pro Liter). Nach einer Viertelstunde tritt eine auffallende Frequenzsteigerung ein, womit eine Interzeption = Quasikontraktur einherging. Im Verlauf einer halben Stunde geht diese Quasikontraktur unter Verringerung der Frequenz allmählig vielleicht in eine wahre Kontraktur über, die ein paar Stunden anhält, worauf der Versuch abgebrochen wurde.

Die Schreibfläche bewegte sich über 1 cm und in 12 Minuten; in der Figur entspricht 1 cm der Abzisse 9 Minuten. Die Halb-Zentimeter-Periodizität wird durch eine Unvollkommenheit des Uhrwerks verursacht.

---

[1]) T. P. Feenstra, Onderz. Physiol. Lab. Utrecht (6). Bd. II. S. 1.

[2]) H. Zwaardemaker, K. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, 27 April 1917. Proc. Vol. XIX. p. 105.

Am wichtigsten wäre es, die Dauerform der Zusammenziehung bei den Systolen der Emanation zu verfolgen. Längere Zeit hintereinander haben wir das bisher nicht tun können wegen der Flüchtigkeit des Gases. Die Technik wird sich darauf noch speziell zu richten haben, was sehr erwünscht ist, weil wir gerade in diesem Falle sicher sind, dasz kein chemischer Einflusz ausgeübt werden kann. Das Atom Emanation hat einen geschlossenen äuszern Elektronenring und also keine chemische Valenz.

Eine Kontraktur entwickelt sich bereits einigermaszen, wenn man das Herz durch kaliumfreie Durchströmung zur Aufnahme eines radioaktiven Vertreters des Kaliums vorbereitet. Hat man die Menge des Calciums gering genommen, steht das Herz bei kaliumfreier Durchströmung rasch genug still und wartet man nicht zu lange mit der erneuerten aktiven Durchströmung, so läszt sich eine Alphaautomatie bekommen ohne nennenswerte Kontraktur. Läszt der Stillstand auf sich warten und dauert es lange, bevor dit Pulsationen aufs neue erweckt werden, so fehlt die Kontraktur nie. Am leichtesten erhält man eine Alphaautomatie, ohne Kontraktur, wenn man unmittelbar von der originalen Betaautomatie auf eine Alphaautomatie übergeht. Während der ersten Viertelstunde werden dann Radium und Emanation gar keinen Tonus ergeben, Thorium nur wenig, Uran etwas mehr.

Es wird dem Leser aufgefallen sein, dasz alle nach einer Viertelstunde sich entwickelnden Abweichungen hauptsächlich sich auf die Kraftäuszerung und die Kontraktur der Herzen beziehen. Aber Kraftäuszerung und plastischer Tonus (Kontraktur) sind nach J. B. ZWAARDEMAKER [1]) Funktionen, die von der Radioaktivität völlig unabhängig sind und auch ohne sie bestehen können. Es ist daher sehr begreiflich, dasz sie nicht dieselben bleiben, wenn man Elemente vertauscht, die, obgleich sie die Radioakitvität gemeinsam haben, in ihren chemischen und übrigen physikalischen Eigenschaften grundverschieden sind.

Die von der Radioaktivität abhängigen Funktionen ändern sich weder im Anfang noch später, wenigstens nicht mehr als normaliter erwartet werden kann, wenn man Dauerversuche vornimmt. Die radioaktive Energie, die von den verwendeten Mengen der verschiedenen Elemente ausgestrahlt wird, ist in allen Fällen quantitativ von derselben Ordnung. Sie ruft in unregelmäszigen Intervallen an sich kleine Erregungen hervor, die sich summieren und schlieszlich im Erregungssystem ein Hin- und Herpendeln des beweglichen

[1]) J. B. Zwaardemaker, Inaug.-Diss. S. 20 u. S. 40.

Gleichgewichts hervorrufen und bleibend unterhalten. Wächst die Wirkung der Strahlung auf das Doppelte oder ein Mehrfaches der Schwelle, so tritt Schädigung und auf die Dauer sogar Vernichtung des Lebens ein. Die Grenzen zwischen welchen die Strahlung dosiert werden darf, liegen für das natürliche Elment am weitesten auseinander, müssen für das Radium und das Uran am engsten gezogen werden. Das mittlere Intervall der gesonderten Reizungen ist bei den Alphastrahlungen gröszer als bei den Betastrahlungen. Ich vermute daher, dasz es Automatien geben werde, die besser einer Alphastrahlung, andere, die besser einer Betastrahlung angepaszt sind. Die Automatien des Herzens, des Darms und des Uterus verhalten sich in Apha- und Betazustand gleich. Wenn sie sich unterscheiden, sind die Nebeneigenschaften der Elemente daran schuld.

Schluszsätze.

Wie aus unsere Darlegungen hervorgeht, ist es möglich, am isolierten oder in situ gelassenen Herzen der Wirbeltiere (Kaltblüter oder Warmblüter) unter Einflusz der Alphastrahlen eine künstliche Automatie hervorzurufen, die in günstigen Fällen stundenlang anhalten wird. Wenn man von unwesentlichen Punkten absieht, weicht in der ersten Zeit diese Alphaautomatie weder mechanisch noch elektrisch von der gewöhnlichen Kaliumautomatie ab. Später entwickeln sich infolge der nichtradioaktiven Eigenschaften, der vertretenden, in der Durchströmungsflüssigkeit aufgenommen Strahler, oder der Abwesenheit des chemischen Kaliums, Aenderungen der verschiedensten Art. Diese sekundären Aenderungen beziehen sich ausschlieszlich auf Funktionen, die von der Radioaktivität als solche unabhängig sind, wie die Kraftäuszerung, der plastische Tonus (Kontraktur), die Ernährung des Herzens.

Von den echt radioaktiven Funktionen wurde in diesem Aufsatz blosz die Automatie behandelt und diese zeigt sich für Alpha- und Betastrahler gleich. Blosz wenn man die zwei Automatien zu gleicher Zeit zusammenbringt, tritt ein Unterschied hervor, der sich im Antagonismus äuszert. Auf die Beschreibung der Beziehungen der Leitfähigkeit [1]) und der Reizbarkeit [2]) zur Radioaktivität musz hier des Raums und der Zeit wegen verzichtet werden. Sobald wie möglich werden sie an anderer Stelle zur Hand genommen werden.

---

[1]) J. B. Zwaardemaker, Diss. Utrecht 1922. S. 13.
[2]) M. den Boer, Diss. Utrecht 1921.

L'ACTION PHYSIOLOGIQUE DU POTASSIUM ET DU ÇALCIUM

PAR

H. ZWAARDEMAKER.

COMMUNICATION FAITE A L'OCCASION DU

75me ANNIVERSAIRE

DE LA FONDATION DE LA SOCIETE DE BIOLOGIE

Séance du 27 Mai 1923.

La physiologie analytique a la tâche d'indiquer la signification de chacune des innombrables conditions qui régissent la fonction d'un organe. La méthode souveraine pour atteindre ce but est de faire varier une des conditions, toutes les autres restant les mêmes. Ce procédé conduit à coup sûr au but, si les conditions sont indépendantes les unes des autres. Mais bien souvent elles sont liées entre elles. Tel est le cas pour les deux facteurs que la Société a mis à l'ordre du jour: l'influence du potassium et du calcium. Le problème est extrêmement obscur, parce que les actions de ces deux éléments ne sont pas liées entre elles par une loi naturelle, mais par un de ces rapports mystérieux, dont la biologie fournit de nombreux exemples. Aussi, n'y a-t-il qu'une seule manière de trancher la difficulté, c'est de chercher à substituer au facteur en question, par exemple l'influence du potassium, d'autres facteurs, voisins ou non. Si l'on réussit alors à conserver la fonction, on a décelé ce qu'il y a d'essentiel dans l'action, abstraction faite des attributs accessoires.

Heureusement, la substitution est ici possible. En 1906, Campbell et Wood découvrirent la radio-activité du potassium et, 10 ans plus tard, on réussit à Utrecht à indiquer les substituts. Tous les éléments radioactifs, sans exception, sont capables de remplir le rôle du potassium dans plusieurs fonctions, et aucun autre élément n'a ce pouvoir. D'ailleurs, au lieu d'appliquer l'élément matériel à l'intérieur de l'organe, on peut faire un usage externe d'un rayonnement corpusculaire. Celui-ci aussi doit être administré en quantité déterminée. Ce n'est qu'au delà d'un certain seuil que l'action se

manifeste brusquement et, à partir d'une dose double, on observe un effet nuisible, au lieu d'un effet restaurateur. Par conséquent, c'est le caractère commun, dans tous ces moments substituables, si différents par leur nature, qui est le facteur essentiel, celui qui importe biologiquement. En outre, comme le potassium se rencontre dans tous les tissus animaux, une nouvelle propriété de ces tissus est signalée, celle de la bio-radio-activité.

Le potassium n'a qu'un faible pouvoir radioactif, 1 gr. de cet élément émet par seconde, d'après des estimations, 2.000 particules bêta de grand pouvoir pénétrant, le nombre de ces particules

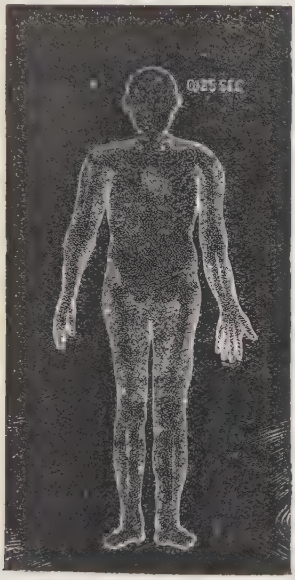


Fig. 1.

étant réduit à moitié après un trajet d'un mm. dans les tissus. On évalue d'ordinaire à 40 gr. la quantité de potassium contenue dans le corps humain, qui émet 80.000 particules bêta par seconde. Si l'on pouvait observer ces explosions qui se produisent continuellement dans notre corps, on verrait à peu près l'image représentée fig. 1.

Cette figure représente le contour du corps humain. Sur la surface ainsi délimitée sont projectés les atomes de potassium, qui, dans l'espace de temps d'un huitième de seconde, ont l'occasion de lancer une particule bêta. Dans cet intervalle, se produisent

10.000 décharges, que je me figure distribuées dans tout le corps, comme la figure l'indique; il y en a surtout dans les muscles, moins dans le foie et le cerveau; les os et les poumons en sont dépourvus. Si nous pouvions voir les explosions, nous verrions le cœur se dessiner à travers une voile, parsemé de points brillants, comme un amas stellaire dans le ciel étoilé.

Sans doute ,la bio-radio-activité n'est pas un agent à négliger dans l'organisme, car chacune de ces explosions représente une mise en liberté d'énergie du même ordre que celle qui est en état d'exciter nos organes des sens supérieurs, l'œil et l'oreille, au seuil de la sensation.

Pour étudier de plus près le rôle de la bio-radio-activité dans notre organisme, on s'adressera aux organes qui renferment beaucoup de potassium. Or, aucun organe ne convient mieux à ce but que le cœur des animaux inférieurs, car il fonctionne à l'état isolé, sans notre intervention; de plus, les cellules de cet organe sont pour ainsi dire baignées directement dans le sang, qui peut être enlevé et remplacé d'un liquide artificiel de composition excessivement simple, au moyen duquel on leur peut fournir telle dose que l'on veut de nos éléments. On peut diminuer, au préalable, par lavage, la provision de potassium et de calcium que les cellules cardiaques possèdent naturellement, et l'on peut même, dans des conditions déterminées, épuiser cette provision dans les couches superficielles. La technique ayant été réglée relativement au cœur, les expériences purent être étendues à d'autres organes, en leur donnant ainsi une portée générale.

En procédant ainsi, 2 lois ont été révélées:

1° Loi du remplacement équiradio-actif;

2° Loi de l'antagonisme radio-physiologique.

La première était prévue; la seconde était inattendue et, actuellement encore, elle m'embarrasse.

La loi de remplacement est celle d'une équivalence corpusculaire. Pour s'en assurer, il suffit de jeter un coup d'œil sur le graphique représentant les doses extrêmes; elles sont indiquées par leurs logarithmes naturels [1]).

Sur l'axe des abscisses, les 4 éléments: potassium, thorium, uranium, radium, sont placés d'après le nombre des particules qu'ils émettent par gramme et par seconde; en ordonnées sont représentées les doses (en gramme par litre) maxima et minima nécessaires à un fonctionnement normal des organes. La courbe

[1]) Voy art. 2 de cette livraison.

supérieure relie les doses maxima, l'inférieure les minima que nous avons recontrées jusqu'ici. Une bande droite reste libre entre les 2 lignes. La forme droite de cette bande apprend que la dose peut être diminuée proportionnellement au nombre de particules émises. Il y a donc, dans les expériences une équivalence du nombre des corpuscules, alpha et bêta *pro miscue*. Pour bien fonctionner, l'organe doit disposer d'un certain nombre, qui est à peu près le même pour les divers éléments. Dans ces conditions, la quantité d'énergie radio-active mise en liberté par seconde est la même pour tous les radiateurs alpha comparés entre eux. Mais cette quantité n'est pas la même quand on compare les radiateurs alpha et les radiateurs bêta, ces derniers fournissent beaucoup moins d'énergie que les alpha.

Il n'y a pas encore moyen, pour le moment, d'établir quelques rapports quantitatifs à ce sujet, car, selon toute probabilité il se produit dans les couches limites des cellules une adsorption de cations et de micelles, par laquelle la densité de l'accumulation des atomes radio-actifs est fortement augmentée à cet endroit. Des recherches spéciales, faites en vue de résoudre ce problème, ont même appris que des atomes radio-actifs, placés dans les couches superficielles, sont beaucoup plus importants pour la fonction que le potassium fixe à l'intérieur de la cellule, bien qu'il y soit présent en concentration 10 fois plus forte que la concentration normale de liquide de perfusion.

Au sujet du mécanisme des effets radio-actifs les conceptions peuvent être fort différentes. On peut se figurer une mise en liberté d'ions de potassium et attribuer à ceux-ci une influence chimique; on peut soupçonner une certaine importance de l'effet mécanique de la pluie de projectiles; enfin, on peut envisager, comme cause immédiate, le mouvement rapide de la charge électrique, portée par la particule.

La prémière loi ne donne aucun renseignement à ce sujet. Tout ce qu'elle apprend, c'est que les rayonnements corpusculaires, quelle que soit leur nature, sont capables de remplacer le potassium.

Mais, peu de temps après la découverte de la première loi, la seconde apparaît d'une façon tout à fait accidentelle. Elle s'énonce de la façon suivante: les effets des radiateurs alpha peuvent se combiner additivement; il en est de même des effets des radiateurs bêta; mais, des radiateurs alpha et bêta, agissant simultanément, se contrarient mutuellement et peuvent, quand ils sont

exactement balancés, annuler réciproquement leurs actions, au point que l'état qui en résulte semble être un état sans bio-radio-activité. Mais, la bio-radio-activé latente se manifeste alors immédiatement, lorsqu'on diminue ou qu'on augmente une des influences.

Il n'est pas possible d'expliquer chimiquement cet antagonisme. On se convaint de cette vérité dès qu'on prend entièrement connaissance des faits.

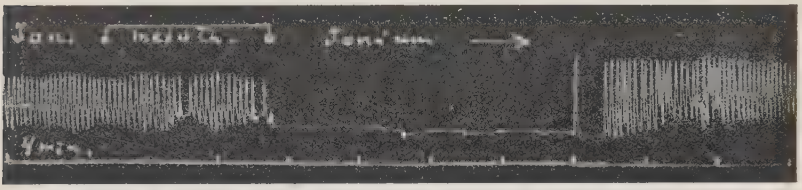


Fig. 2.

Qu'on se figure un cœur, dont les battements sont entretenus par l'ionium,un radiateur de particules alpha. 1 mgr de cet élément par litre de liquide de circulation suffit déjà. Supposez maintenant que l'organe soit exposé au rayonnement de mésothorium, qui émet uniquement des particules bêta, celles-ci pénètrent dans les cellules et l'arrêt du cœur en résulte. Les effets produits par l'ionium, introduit à l'intérieur ainsi que par le rayonnement provenant de l'extérieur, s'entre-détruisent; en effet, si l'on retire le mésothorium, tout en laissant l'ionium, le cœur se rétablit; ce qu'il aurait fait, d'ailleurs aussi, si l'on avait enlevé l'ionium par lavage, tout en gardant le mésothorium.

Chacun des 2 rayonnements est par lui-même capable de faire battre le cœur. Ensemble, ils annihilent mutuellement leurs effets; c'est manifestement la charge des particules qui détermine la situation:

Antagonisme radio-physiologique.

—		+
potassium rubidium	⟵	thorium uranium ionium
césium? mésothorium	⟶	radium émanation polonium

Les 2 lois, que nous avons établies, ont un caractère empiri-

que. Si l'on a rencontré des exceptions, comme dans le cas du césium, dont les préparations commerciales ont été reconnues radio-actives, tandis que les produits purs ne le sont pas, de nouvelles recherches en ont donné l'explication. Pour obtenir des effets avec du césium pur, on doit employer des doses colossales conduisant à une pression osmotique dangereuse quand on ne diminue pas le sodium (jusqu'à moitié).

Le cœur, nourri à glycose (Noyons), a également éclairci nos vues. Ce cœur, qui bat énergiquement et donne de magnifiques électrogrammes, fonctionne exclusivement grâce à ses propes électrolytes. Le potassium de dépôt, le calcium de son protoplasma, mais surtout les ions de potassium et de calcium adsorbés dans ses couches limites lui permettent de battre pendant des heures. Ce sont, de nouveau, les atomes de la couche superficielle qui sont les plus importants; a-t-on enlevé ceux-ci par lavage, la fonction ne se rétablit qu'à la longue par perfusion à la glycose, sans doute parce que de nouveaux atomes doivent venir des profondeurs, les atomes de potassium de loin, ceux du calcium de plus près. La quantité d'électrolytes propres, hébergée par de pareilles cellules cardiaques, n'est pas bien grande; mais, en la calculant, on reconnaît que, même s'il ne reste rien d'autre que le dépôt, il peut encore se produire en moyenne une explosion toutes les 2 secondes.

Eh bien, quel terrain régissent nos 2 lois? Il faut y comprendre l'automatisme du cœur; les mouvements automatiques de l'œsophage, de l'intestin et de l'utérus; les synapses des nerfs cardiaques et vasomoteurs, et, peut-être aussi, certaines synapses internes du système nerveux. Toutes les fonctions, que je viens d'énumérer, sont caractérisées par une période réfractaire; elles sont donc régies, selon toute probabilité, par des réactions à équilibre ana- et catabolique, continuellement alternantes. Abandonnées à elles-mêmes, ces réactions doivent, selon la loi de l'entropie, arriver au repos. Malgré cela, elles durent toute la vie. Le cœur bat, la respiration s'entretient, les synapses restent disposées à la conduction. Pour expliquer cela le néovitalisme invoque l'intervention de la vie cellulaire. Je suis tenté de supposer que le rayonnement corpusculaire du potassium, se produisant à des instants tout à fait irréguliers, fait perdurer les processus que la loi de l'entropie, si elle était seule maîtresse, ferait aboutir. En d'autres termes, je pense que nous devons voir, dans la bio-radio-activité, le moyen dont la nature se sert pour rendre possibles des automatismes à périodicité permanente.

Examinons maintenant le rôle du calcium.

Le hasard a voulu que, parmi les substituants internes du potassium, il y en ait un dépourvu d'affinité chimique, l'émanation. On peut la mettre à la place du potassium sans que les organes cessent de fonctionner. Cela nous fournit le moyen d'étudier l'autre facteur, que je vais envisager. Le cœur, soumis à l'action de l'émanation, est capable de manifestations d'énergie considérables, que l'on peut rendre visibles par enregistrement isométrique. Ces développements d'énergie sont en rapport avec la dose de calcium contenue dans le liquide de perfusion. La force croît à peu près proportionnellement à la teneur en ions de calcium. En même temps, ces derniers fournissent un contrepoids aux influences débilitantes provenant d'ions univalents, également présents et ainsi est entretenu un certain degré de contracture, sans lequel toute pulsation est impossible.

Jusqu'ici, nos constatations sont du domaine de la physiologie analytique. Or, un fonctionnement normal des organes exige une synthèse de toutes les fonctions. Aussi, le potassium et le calcium devront-ils collaborer et il s'agit maintenant d'établir leurs rapports mutuels ainsi que leur rapport avec les autres moments qui régissent le corps.

Prenons la bio-radio-activité comme point de départ.

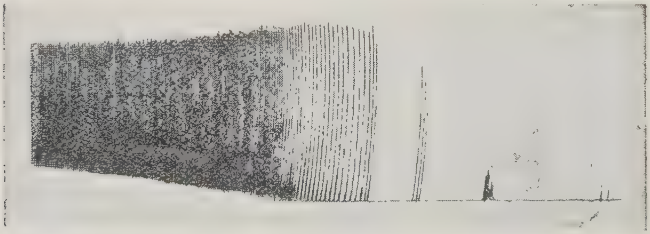


Fig. 3. Lire de droite à gauche.

Ce dispositif montre le réveil des battements d'un cœur de Grenouille, perfusé avec une solution de Ringer à l'uranium, après que la fonction a été arrêtée par soustraction de potassium. J'ai noté au commencement 2 attouchements qui sont restés sans effet. Bientôt, les battements reprennent spontanément et deviennent peu à peu réguliers.

La figure suivante met en évidence le phénomène paradoxal de l'arrêt d'un mouvement spontané, au moment du passage d'un

liquide radio-actif d'une espèce à un liquide radio-actif de l'autre espèce, se manifestant dans l'utérus d'une souris. On voit, à gau-

Fig. 4.

che des contractions spontanées produites par le thorium, à droite des contractions spontanées produites par le potassium. Le changement a lieu au point indexé.

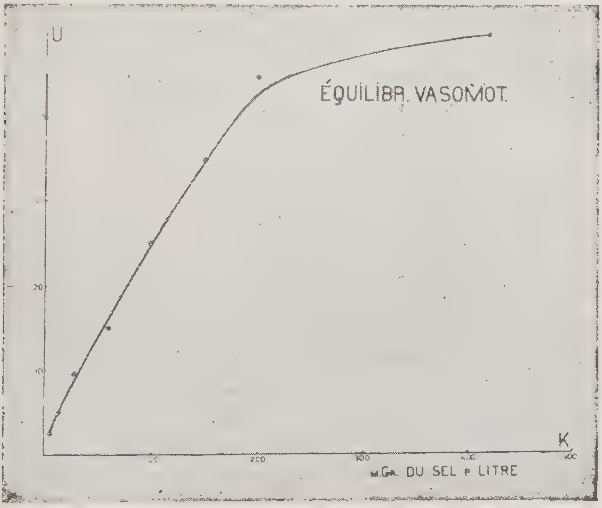


Fig. 5.

Un phénomène analogue peut être provoqué, dans d'autres circonstances, comme Busquet l'a démontré, par un défaut d'adaptation de l'organe à la situation nouvelle, mais un tel manque d'accommodation ne peut pas être en jeu lorsque l'antagonisme est permanent, comme dans le cas des équilibres radiophysiologiques.

Nous le représenterons dans la figure relative à l'équilibre entre les rayonnements alpha et bêta, dans les synapses des nerfs vasomoteurs chez la Grenouille.

En abcisses sont portées les doses de potassium, en ordonnées les doses d'uranium. La courbe a été tracée d'une manière continue à travers les points d'antagonisme complet, indiquant les moments où les nerfs vaso-moteurs deviennent inexcitables. Au-dessus de la courbe, on doit se représenter les effets vasomoteurs qui se produisent dans le cas d'une prédominance du rayonnement bêta, ce qui est le cas normal.

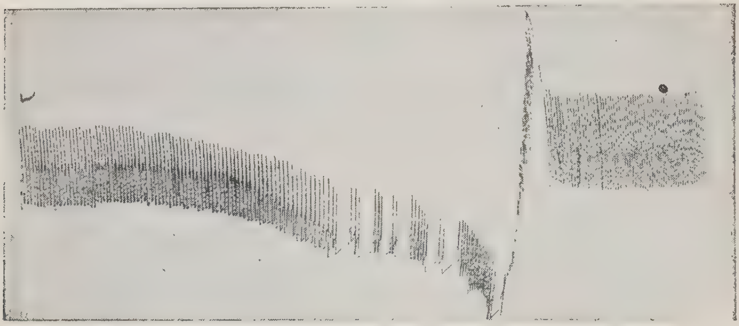


Fig. 6. Lire de droite à gauche.

Enfin, la bio-radio-activité est nécessaire pour les fonctions des synapses du nerf vague.

Les synapses entre le nerf vague et le cœur sont mises hors fonction, lorsque, dans certaines conditions, on prive de toute radio-activité le liquide de circulation; mais, une dose convenable de radio-activité, soit de rayons alpha, soit de rayons bêta, ramène l'excitabilité. La figure représente l'effet produit, au cours de la perfusion avec un liquide renfermant de l'uranium, par faradisation de la racine, sur le nerf vague d'un cyclostome. L'arrêt est précédé d'une accélération et, longtemps encore après l'arrêt, on constate une action résiduelle.

En outre du potassium, dont l'action prédomine, ces phénomènes sont influencés par la teneur en calcium du liquide de perfusion. Cependant, si je ne me trompe pas, cette influence remarquable est un cas particulier d'un phénomène beaucoup plus général, à savoir la dépendance de la bio-radio-activité des rapports humoraux existant dans le liquide de perfusion. Les phénomènes de cet ordre

s'expliquent d'une manière relativement simple, lorsqu'on admet des adsorptions, par lesquelles des quantités particulièrement considérables d'atomes s'accumulent dans les couches-limites des cellules. La couche adsorbée fait alors équilibre, d'une part, avec le dépôt de potassium dans la cellule, d'autre part avec les atomes radio-actifs dans le liquide de circulation. Le calcium, présent en même temps, contribue à cet équilibre, de même que la choline, l'adrénaline, les acides gras, la lécithine. Toutes ces substances existent normalement dans le sang; il est donc naturel de chercher à expliquer, par leur présence, les différences singulières qui ont été constatées depuis longtemps. Je me figure que quelques-unes de ces substances jouent le rôle de sensibilisateurs, ce qui fait que la bio-radio-activité peut rester faible dans la nature ou dans les expériences bien réglées; d'autres agissent comme désensibilisateurs et nous obligent, quand elles sont présentes, à forcer la dose requise pour garantir l'automatisme périodique contre un amortissement graduel.

Un simple schéma pourra montrer le chemin dans le chaos des phénomènes successivement mis à jour.

choline nicotine éosine }	sensibilisateurs	{ adrénaline histamine fluorescéine
β	$\longleftarrow$ $\longrightarrow$	α
Ca lécithine etc. }	désensibilisateurs	{ Ca

La bio-radio-activité naturelle a caractère de rayonnement bêta, est placée à gauche dans le schéma; la bio-radio-activité artificielle, à caractère de rayonnement alpha ,peut lui être opposée, ainsi que l'indiquent les flèches. Les sensibilisateurs renforcent les actions, les désensibilisateurs les dépriment. Les premiers sont disposés en haut, les derniers en bas. Dans le cas où plusieurs sensibilisateurs combinent leurs actions, ils peuvent se conjuguer ou se contrarier, suivant qu'ils agissent dans le même sens ou en sens opposé. Les rapports sont rendus plus compliqués encore par le fait que la sensibilisation ou la désensibilisation n'est pas la même par rapport aux 2 espèces de radio-activité. On ne saurait comprendre tous ces phénomènes dans leur ensemble, à moins de recourir à une théorie résumée dans le schéma. Une telle conception peut être illustrée enfin par des épreuves faites sur des modèles, dans lesquels on remplace l'organe vivant par l'un ou l'autre adsorbant. On con-

state alors que la fluoresceine et l'éosine, l'adrénaline et la choline s'expulsent mutuellement de l'absorbant, absolument de la même manière que pour les tissus vivants. Evidemment, cela ne constitue pas une preuve de l'exactitude de la théorie, mais la théorie y trouve quelque appui.

Le potassium et le calcium ne sont que 2 des 12 éléments que l'on trouve d'une façon constante dans les tissus. En outre de ses propriétés atomique et ionique, chacun de ces éléments doit avoir son caractère spécifique propre: son absolue nécessité pour la vie en dépend. Des circonstances heureuses ont fait découvrir le caractère spécifique du potassium, mais le caractère également spécifique du calcium reste encore inconnu. Espérons que, dans le quart de siècle qui nous sépare encore du centenaire de la Société de biologie, le génie français qui nous a révélé la radio-activité, aura découvert de nouveau quelque propriété de la matière, associée cette fois au calcium, et tout aussi importante pour la biologie que les rayons corpusculaires de Becquerel: ceux-ci n'ont pas seulement un pouvoir abiotique, destructeur des tissus; ils possédent aussi un pouvoir biotique, restaurateur. Ces rayons sont donc, au sens littéral du mot, un flambeau de la vie, puisque partout ils répandent dans les tissus leur action vivifiante, qui garantit les organes contre le sommeil mortel de l'entropie.

ÜBER PHYSIOLOGISCHE SCHALLMESSUNG [1])

VON

H. ZWAARDEMAKER UND S. OHMA.

§ 1. Die Schalleinheit.

Vor kurzem hat A. STEFANINI [2]) eine Schalleinheit angegeben, die er eine Phonie, „una fonia", nennt und 10 Erg gleichstellt. Diese Einheit ist leicht darstellbar und zwar in folgender Weise. Eine stählerne Kugel von 70 g Gewicht wird mittels zweier seidener Schnüre an einem kleinen Galgen aufgehängt. Sie wird von einer dritten Schnur ein wenig aus der Gleichgewichtslage gezogen, so dass die Oberfläche der Kugel eine durch den Galgen gelegte perpendikuläre Fläche tangiert. Eine zweite, kleinere Kugel von 6 g Gewicht wird in ähnlicher Weise an dem gleichen Galgen aufgehängt. Man zieht sie an einem Gradbogen entlang zurück und lässt sie in freier Pendelbewegung gegen die grosse Kugel stossen. Die kleine Kugel springt zurück, und bevor ein zweiter Anprall stattfinden kann, zieht man die grosse Kugel weg.

Die Energie, mit der die Pendelkugel anstösst, lässt sich leicht berechnen. Ebenso die Energie des Rückpralls. Die Differenz wird in akustische Energie und in Wärme verwandelt. STEFANINI glaubt, dass man die Wärme vernachlässigen darf, falls man sich vollkommen elastischer Kugeln (Stahl) bedient. Dann wäre die akustische Energie für eine Fallhöhe von $1^0\ 51'$ 10 Erg, von $5^0\ 52'$ 100 Erg, von $18^0\ 37'$ 1000 Erg, von $36^0\ 45'$ 4000 Erg und von $89^0\ 22'$ 19 000 Erg.

Setzt man 10 Erg = 1 Phonie, so werden diese Zahlen 1, 10, 100, 400 und 1900 Phonien.

Er wählte 10 Erg als Einheit, weil sie 1 Mikrojoule entspricht. Eine Fallhöhe von etwas weniger als 2^0 verschafft sie uns, wenn man, wie wir getan haben, immer einen Apparat von den STEFANINIschen Abmessungen zur Verfügung hat.

Die Grösse des Fehlers einer derartigen Berechnung ist kaum abschätzbar, da auch bei vollkommen elastischen Körpern doch immer

---

[1]) Zeitschr. f. Sinnesphysiologie. Bd. 54 S. 79 1922.

[2]) A. Stefanini, Il nuovo cimento. Anno 66, ser. 6, vol. 19, p. 5.

etwas in ungeordnete Energie, in Wärme, übergehen muss. Da wir vorläufig kein Mittel kennen, die Effizienz des Stofspendels, soweit es sich um den Uebergang von Fallenergie in Schall handelt, zu beurteilen, so wollen wir bis auf weiteres STEFANINI in seiner Vernachlässigung des Verlustes in Wärme folgen. Die relative Richtigkeit der soeben angegebenen Werte wird durch den absichtlich begangenen Fehler nicht beeinträchtigt, da STEFANINI sich in dieser Hinsicht auf eine experimentelle Untersuchung von S. BANARJI[1]) berufen kann, der in Kalkutta die akustischen Wirkungen eines Stosses bei verschiedenen Fallhöhen mittels eines Akumeters prüfte, wobei ein von einer Uhrunruhe radiär getragenes frei aufgestelltes Spiegelchen als Massstab fungierte, und die theoretisch abgeleitete Formel empirisch bestätigt fand.

Der Schallimpuls des STEFANINIschen Stosspendels bei etwa 2^0 Fallhöhe entspricht also einer Phonie. Man kann den Knall in der Richtung des Stosses bis auf 21 m wahrnehmen, in der Richtung normal zur Fallrichtung bis auf 10 m. Auch dieses Resultat ist in Uebereinstimmung mit den Befunden BANARJIS, der ebenso die Verbreitung des Schalles in der Richtung des Stosses bevorzugt fand.

§ 2. Die Messung eines willkürlichen Schalles.

Lord RAYLEIGH[2]) hat in seinem Einstellverfahren ein ausserordentlich bequemes Mittel zur Messung eines willkürlichen Schalles angegeben. Ursprünglich diente es ausschliesslich zur absoluten Energiemessung des Schalles innerhalb eines Resonators, also stehender Schallwellen und zwar in einem Bauche derselben, bald jedoch dehnte W. KÖNIG[3]) die Theorie auf fortlaufende Wellen aus und machte W. ZERNOV[4]) eine schöne praktische Anwendung des Prinzips, indem er mittels desselben die Intensität der laut klingenden menschlichen Stimme bestimmte. RAYLEIGHS Prinzip lässt sich kurz in folgender Weise formulieren. Wenn man in einen Strom longitudinaler Schallschwingungen eine kleine Scheibe bringt, die an einem feinen Quarz- oder Metalldraht aufgehängt ist, so stellt sie sich quer zur Schallrichtuug, wenn die Torsion des Aufhängdrahtes entgegen arbeitet, mit einer Kraft, die der Schallenergie proportionial ist. Wenn man an der Scheibe ein Spiegelchen befestigt oder einfach ein kleines Spiegelchen als Scheibe benützt, kann man die Reflexion eines

[1]) S. Banarji, Phil. Magazine (6) vol. 32, p. 96, 1916.
[2]) Lord Rayleigh, Scientific papers, vol. II, p. 132.
[3]) W. König, Ann. d. Physik, Bd. 42 u. 43, 1891.
[4]) W. Zernov, Ann. de Physik (4) Bd. 24, p. 79, 1908.

Lichtstrahls zur Messung des Winkels verwenden, unter welchem der Aufhängedraht tordiert wird. Dabei wird von einer Ruhelage ausgegangen, bei der die Fläche des Spiegelchens einen Winkel von 45⁰ mit der Schallrichtung bildet. In diesem Falle ist die Methode am empfindlichsten. Auch durch Verkleinerung des Spiegelchens kann man die Empfindlichkeit steigern, dabei setzt uns jedoch bald der Wunsch nach optischer Reinheit des Spiegelbildes gewisse Schranken. Wenn man bloss mit kleinen Winkelausschlägen rechnet, sind die Ausschläge proportional der angewandten akustischen Energie.

Eine genaue Messung erfordert einen ruhigen Nullstand des RAYLEIGHschen Messspiegelchens. Um ihn zu sichern hat man früher unter dem magnetisierten Spiegelchen einen kleinen Magnet angebracht, weil man der Kleinheit der Kräfte wegen auf eine bifilare Aufhängung verzichten muss. Im Anfang haben wir ebenfalls eine Magneteinstellung benützt, später jedoch uns mit einem etwas platt geschlagenen Wollastondraht begnügt. [1])

ZERNOV war unseres Wissens der erste, der das Einstellspiegelchen in einen resonanzfreien Raum brachte. Er schützt sich gegen den Einfluss eventuell vorhandener Luftströme durch Umhüllung des Raumes mit feiner Metallgaze. Wir sind ihm hierin nachgefolgt, haben jedoch einen Zuleitungskanal von den Abmessungen des menschlichen Gehörgangs hinzugefügt. Die Empfindlichkeit wird durch diesen Kunstgriff viele tausende Male erhöht, ohne andere Resonanzen einzuführen, als sie normaliter beim menschlichen Hören vorkommen. Vor Jahren wurde mit diesen Vorrichtungen das Verhältnis bestimmt zwischen der lauten menschlichen Stimme und der Flüstersprache, deren die Ohrenärzte sich bedienen. Das Verhältnis zeigte sich für die benützten Prüfungsworte im Mittel 170 : 1. [2])

Die jetzt entstandene Vorrichtung ist geeignet zur Messung jedes willkürlichen Schalles. Zwar hat die Trägheit des Spiegelchens zur Folge, dass reine Impulse und sehr kurzdauernde Töne nicht gemessen werden können, da auch ein Spiegelchen von 2 mm Durchschnitt, wie es in unsern Versuchen zur Anwendung kam, kaum imstande ist Impulsen und kurzen Klängen in ihr Entstehen und Verschwinden zu folgen, aber für einigermassen getragene Töne und Geräusche arbeitet der Apparat vorzüglich. Selbstverständlich haben

---

1) H. Zwaardemaker, k. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, 14. Mai 1915. Proceeding vol. 18, p. 165.

2) H. Zwaardemaker, nach Prüfungen zusammen mit C. Reuter, Nat. u. Geneesk.-Congres Delft, April 1913.

wir ihn den zufällig vorliegenden äussern Umständen anzupassen.

Zu den jetzt zu besprechenden Messungen wurde der Apparat in folgender Weise ausgestattet.

Auf einem festen mit Stellschrauben versehenen Fuss befindet sich eine kleine Kammer mit metallenem Boden und Dach, und Seitenwänden aus Metallgaze, worin Glasstreifen eingelassen sind

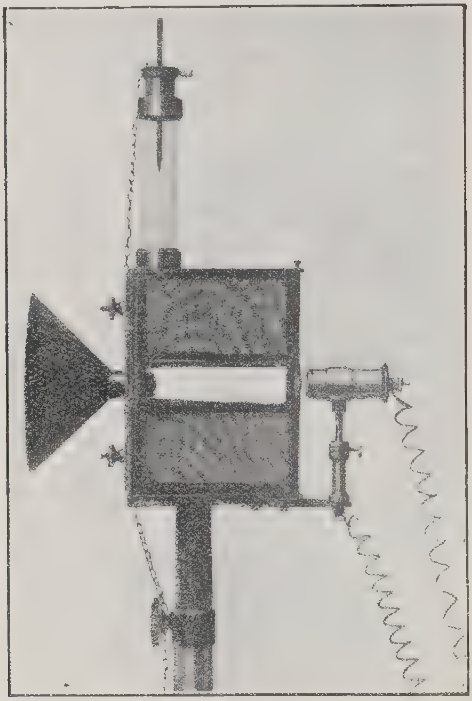


Abbildung 1.
Zwaardemakers Phonimeter.
Das Spiegelchen unsichtbar.

zum Durchlassen des einfallenden und ausgehenden Lichtstrahles. In der Mitte der Kammer hängt ein kleines scheibenförmiges Glasspiegelchen von 2 mm Durchmesser und 60 μ Dicke an einem Wolastondraht von 5 Mikron. Die Länge des Platindrahtes ist 15 cm. Mittels eines oben angebrachten Aufhänge Knopfes lässt es sich höher oder tiefer stellen bzw. ganz allmählich um die Achse des Aufhängedrahtes drehen.

Die Zuleitung des Schalles geschieht durch ein kurzes Kupfer-

stück, in welchem eine Bohrung von 6 mm, in anderen Fällen 3 mm angebracht ist. Diese Zuleitung kan höher oder niedriger gestellt werden, so lange, bis das Spiegelchen gerade in der Achse der Bohrung sich befindet. Wenn man dem Kanal 48 mm Länge gibt, ist sein Resonanzton dem des menschlichen Gehörgangs gleich (eine offene Orgelpfeife hat das Zweifache der Pfeifenlänge zur Wellenlänge).

Der künstliche Gehörgang setzt sich nach aussen in einen weiten Auffangtrichter fort von 100 qcm Basis und 90° Spitzenwinkel. Man darf wohl annehmen, dass ein Trichter mit so weiter Mündung keine charakteristische Resonanz besitzt und die Klänge und Geräusche, welche man zu messen beabsichtigt, das Spiegelchen in einer nur wenig abweichenden Form erreichen werden.

In unserer Kammer ist das Spiegelchen gegen Luftströme ziemlich geschützt. Die halb aus Glas, halb aus Gaze bestehenden Wände halten fast alle seitlichen Luftbewegungen ab. Vom Trichter her können jedoch noch Ströme hineinkommen. Diese werden genügend beseitigt, wenn man in den Eingang des Kanals ein kleines Wattepfröpfchen schiebt. Letzteres darf selbstverständlich nicht zu sehr zusammengepresst werden und wird mit Hilfe einer Pinzette hineingelegt.

Das Spiegelchen lässt sich, nachdem es mit der Stellschraube in die Achse des Kanals gebracht worden ist, leicht in grösserer oder geringerer Entfernung von der inneren Mündung des Zuleitungsrohrs anbringen. Bei unsern Messungen wählten wir 1, 2 oder 3 mm als typische Abstände. Eine genaue Bestimmung derselben geschah mit einem horizontalen Mikroskop am Okularmikrometer. Als Objektiv benutzten wir ein Mikrosummar von LEITZ, 42 mm, F.: 4,5.

Im Jahre 1915 hat Prof. MICHOTTE im Utrechter Physiologischen Institut eine genaue Prüfung der Proportionalität der Spiegelausschläge mit der dem Spiegelchen zugeführten Schallenergie vorgenommen. Hierzu wurde vor dem Apparat eine elektrisch getriebene grosse C-Stimmgabel [1]) aufgestellt, deren Amplitude an einer hin- und herschwingenden GRADENIGOschen Figur abgelesen wurde. Eine der Zinken befand sich in der Nähe der Mündung eines Resonators, dessen bevorzugte Tonhöhe jener der Stimmgabel entsprach. Das Innere des Resonators führte durch das Röhrchen (an welchem sonst gelauscht werden soll) zum Schallzuleitungsrohr unseres Apparates. MICHOTTE fand, dass eine genaue Proportionalität zwischen den Quadraten der Amplituden, in welchen die Stimmgabel schwang, und den hervorgerufenen Spiegelausschlägen vorhanden war, wenn das Messspiegelchen in eine bestimmte Entfernung zur inneren Aus-

[1]) Länge 30 cm, Dicke 1,4 cm, Breite 2 cm. Fabrikat von König, Paris.

mündung des Zuleitungsrohrs gebracht wurde. Die Untersuchungen MICHOTTES sind bis jetzt nicht veröffentlicht worden, und wir entschlossen uns daher sie der Vollständigkeit halber zu wiederholen. Bevor wir das Ergebnis dieser Beobachtungen mitteilen, müssen wir uns die Frage vorlegen, in welcher Weise die Ablesungen sowohl der Stimmgabel als jene der Spiegelausschläge in Rechnung zu stellen sind.

Es ist unser Wunsch, in einem gegebenen Augenblick aus der Amplitude der Gabel die Menge an akustischer Energie ableiten zu können, die sie in der Umgebung verbreitet und von welcher ein Teil vom Resonator aufgefangen und dem Messspiegelchen zugeleitet wird.

Ueber die Bewertung der von einer Stimmgabel abgegebenen Schallenenergie aus der Amplitude besteht eine Kontroverse. Nach WEAD [1]) besitzt eine unbelastete Stimmgabel in dem Augenblicke, in welchem die Enden der Zinken eine Amplitude von a cm haben, eine Energie V für jede Zinke

$$V = \frac{b\ d^3\ E}{8\ l^3} a^2 \text{ Ergs,}$$

wenn

l = Länge der Zinken in cm
d = Dicke „ „ „ „
b = Breite „ „ „ „
E = YOUNGs Modulus für Stahl = $2,14 \times 10^{12}$.

A. STEFANINI [2]) behauptete jedoch, dass in Formeln wie jener WEADS, die Amplitude der Stimmgabelzinke nicht in der zweiten Potenz, sondern in der ersten Potenz in Rechnung zu stellen sei. M. WIEN [3]) hatte übrigens kurz vorher eine hübsche Methode angegeben, um solche Probleme näher zu prüfen. Wir haben die Gelegenheit aufgegriffen, um auch für unseren Fall die Frage womöglich einigermassen zu klären.

Unser Stimmgabelresonator wurde in seiner Wand mit einer kreisrunden Mikamembran von 7,9 cm Diameter ausgestattet, die in der Nähe des Zentrums eine feine Metallspitze trägt. Auf dieser Spitze ruht federnd, ohne mit ihr verbunden zu sein, ein ganz kleines Spiegelchen, das, sobald die Membran Schwingungen ausführt, mitgeführt wird und sich ein wenig um einen nahen Dehpunkt dreht. Ein auf das Spiegelchen fallender Lichtstrahl wirft ein Spaltbild auf

[1]) Wead, Am. J. of Science (3) vol. 26, p. 183.
[2]) A. Stefanini, Sulla Legge di oscillazione del Diapason. Pisa 1890. p. 22.
[3]) M. Wien, Ueber die Messung der Tonstärke. Inaug.-Diss., Berlin 1888.

eine Skala. Dasselbe schwingt mit und die Verbreiterung des Bildes ist leicht abzulesen. Die Breite des Spaltbildes ist ein Mass für die Amplitude der Luftschwingungen innerhalb des Resonators, denn wir dürfen annehmen, dass die Membran den Druckschwankungen im Resonator unmittelbar folgen wird. Die zweite Potenz dieser Druckschwankungen ist, wie M. WIEN ausführt, proportional der in den Resonator eintretenden Schallenergie.

Wenn wir mittels der Abänderung eines Shunts die Amplitude der Stimmgabel ungefähr um das 5 fache variieren liessen, hatte es keine Schwierigkeit, die jeder Amplitude zugehörige Schwingung der Mikamembran des Resonators zu beobachten. Es stellte sich bei einer Entfernung von 2 cm zwischen Gabel und Resonatormündung eine sehr genaue Proportionalität heraus. Gabelamplitude und Membranamplitude nahmen vollkommen proportional zueinander zu und ab. Bloss bei den sehr grossen Amplituden entstand eine leichte Abweichung. Bei einer Entfernung von 1 cm zwischen Gabel und Resonatormündung fehlte jedoch die Proportionalität und zwar in dem Sinne, dass beim Wachsen der Gabelamplituden jene der Membran etwas zurückblieben.

Von unsern zwei Versuchsreihen, der bei 1 cm und der bei 2 cm Entfernung, wollen wir daher bloss letztere beibehalten, weil allein diese den theoretisch-physikalischen Annahmen entspricht [1])

Versuchsreihe bei 2 cm Entfernung zwischen Stimmgabel und Resonatormündung. Der Resonator etwas verstimmt, um grosse Spiegelausschläge zu vermeiden.

Doppelte Amplitude in Zehntel der Basis der Figur	Doppelter Spiegelausschlag in Graden bei einer Spiegelentfernung von:		
(Basis = 5 mm)	1 mm	2 mm	3 mm
1,5	5	0	0
2	8	1,5	1
2,5	10	3	2
3	14	5	3,5
3,5	18	9	5
4	24	14	6
4,5	30	19	7

Es ergibt sich, dass die RAYLEIGHsche Einstellmethode nicht bloss theoretisch, sondern auch empirisch eine Proportionalität zwischen gemessener Schallenergie und Ausschlägen des Messspiegelchens

[1]) Für Entfernungen kürzer als 1 und länger als 2 cm dürfte es wieder anders sein.

gewährleistet. Es macht praktisch, wie Tabelle und Abbildung ausweisen, auch keinen allzu grossen Unterschied, ob man das Spiegelchen in 2 oder 3 mm Entfernung von der Mündung des Zuleitungsrohrs anbringt. Eine ungefähre Proportionalität ist immer vorhanden.

§ 3. Die Eichung unseres Phonimeters.

Wir haben die Weite des Zuleitungsrohrs sowie die Entfernung zwischen der innern Mündung desselben und dem Spiegelchen mannigfach abgeändert. Immer zeigte sich eine ungefähre Proportionalität zwischen der Energie unserer Schallquelle und der Weite des Spiegelausschlages. Bloss wenn man allzu dicht mit dem Spiegelchen an das Zuleitungsrohr heranrückt, werden Störungen des richtigen Verhältnisses wahrnehmbar. Dann jedoch zeigen sich noch weitere Störungen, wie z. B. elektrische Anziehungen der Spiegelchen, denen nur vorgebeugt werden kann durch eine Erdung sowohl aller Kupfermassen als des am Metalldraht frei aufgehängten Spiegelchens. In ganz ummittelbarer Nähe ist man übrigens auch dann noch nicht gegen die mechanischen Anziehungen gesichert. Man schliesst alle diese Möglichkeiten aus, wenn man das Einstellspiegelchen in 2—3 mm Entfernung bringt. Der einmal gewählte Abstand soll strenge innegehalten und vor jedem Versuche mit dem herangeschobenen horizontalen Mikroskop kontrolliert werden.

Die Empfindlichkeit der Apparate lässt sich in verschiedener Weise abändern. Erstens geschieht es durch Aenderung der Spiegeldistanz (gemessen von der innern Mündung des Zuleitungsrohrs bis zum Aufhängedraht). Zweitens durch Verwendung grösserer oder kleinerer Spiegel. Im allgemeinen nimmt die Empfindlichkeit zu durch Verkleinerung des Spiegelchens; sie zeigt sich etwa umgekehrt proportional mit dessen Durchmesser. Drittens hat die Art und Weise der Zuleitung des Schalles einen Einfluss. Für gewöhnlich ist letzterer Faktor bereits von vornherein festgelegt angesichts der Art des zu prüfenden Schalles. Wenn man ein freies Auffangen desselben anstrebt, darf man den sich dem Auffangtrichter anschliessenden Kanal nicht zu eng machen. Ebensowenig ist dies gestattet, wenn ein unmittelbar angeschlossenes Telephon als Schallquelle dient.

Die Bestimmung der erreichten Empfindlichkeit geschieht am bequemsten, wenn man eine gedeckte Orgelpfeife von bekannter Effizienz als Schallquelle benützt. Wir wählten eine EDELMANNsche kleine Pfeife der 4-gestrichenen Oktave, deren Effizienz früher von ADELS [1]) auf $^1/_{1000}$ bestimmt worden war, ein Betrag, der mit einer

[1]) Adels, Onderz. Physiol. Lab. Utrecht (5) Bd. 14, p. 308, 1914.

ähnlichen Schätzung WEADS für gut gearbeitete Orgelpfeifen übereinstimmt.

Die Pfeife wurde in 8,9 cm Entfernung vor dem Auffangtrichter des Phonimeters aufgestellt. Die Basis dieses Trichters war, wie bereits angegeben, 100 qcm gross. Da der Schall der Pfeife sich über eine Kugel des Radius 8,9 cm verbreitet, so wird, vorausgesetzt, dass man ihre Mündung genau in die Achse des Messapparates gebracht hat, $^1/_{10}$ der totalen Schallmenge vom Trichter aufgenommen. Luftströme hat man bei dieser Entfernung nicht zu fürchten, übrigens auch wegen des Wattebäuschchens im Eingang des Zuleitungskanals nicht wahrnehmbar.

Wenn die Pfeife von einem kontinuierlichen Luftstrom angeblasen wurde, so dass sie einen schönen gleichmassigen Ton gab, bekamen wir einen Zuschlag unseres Messspiegelchens von 2^0 an der Skala, oder 1^0 wirkliche Deviation, d. h. es stellte sich um 46^0 zur Achse des Zufuhrkanals. Der Anblasedruck betrug in einem solchen Augenblick im Mittel 32 cm H_2O und der Lufttransport pro Sekunde bemass sich auf 27 ccm. Die Anblase-energie berechnete sich also auf $32 \times 27 \times 981$ Ergs = 8,47 Mega-Erg. Nach ADELS verwandelte sich hiervon $^1/_{1000}$ in Schall und von diesen 8470 Erg Schallenergie gelangte $^1/_{10}$ oder 847 Erg zum Auffangtrichter. Angenommen, dass wir den zurückgeworfenen Schall vernachlässigen dürfen, befand sich also das Messspiegelchen unter dem Einfluss eines Schallstroms von 847 Erg pro Sekunde. In Phonien ausgedrückt wäre dies ungefähr 85 Phonien.

Die quantitative Bedeutung jedes anderen Ausschlags läst sich hieraus leicht berechnen, denn Schallenergie und Spiegelausschlag sind proportional. Pro Grad der Skala bekommen wir 42 Phonien.

Wahrscheinlich jedoch sind wir nicht berechtigt, die Reflexion des in den Auffangtrichter geworfenen Schalles zu vernachlässigen. Vielleicht ist der Verlust sogar die Hälfte. Dann wäre der Wert, den wir jedem Grad der Skala beilegen müssen, entsprechend zu verringern.

Die Proportionalität zwischen Schallenergie und Ausschlag ist bloss für kleine Ausschläge gesichert bis etwa zu 30^0 der Skala (oder 15^0 wirkliche Spiegeldeviation). Bei grösseren Ausschlägen können wir bloss schätzungsweise vorgehen. Der Wert eines Grades wird immer grösser, so dass eine Deviation des Messspiegelchens von 45^0, welche das Spiegelbild bis zu 90^0 der Skala führt, einer unendlich grossen Schallmenge entspricht.

§ 4. Eine empirische Kontrolle der Stefaninischen Phonie.

Stefanini hat die Intensität des Pendelstosses, die einer „fonia" entspricht (bei einer Fallhöhe von 1^0 51'), bloss theoretisch abgeleitet. Wir wollen versuchen, sie jetzt empirisch zu bestimmen.

Der ursprüngliche Stefaninische Apparat gibt einen Schall, der von zu kurzer Dauer ist, um an unserm Phonimeter messbar zu sein. Wir können das Messspiegelchen nicht so klein nehmen, dass wir bei Vermeidung sehr grosser Fällhöhe und der dabei auftretenden störenden Luftströme Ausschläge bekommen würden. Auch würden die Ablesungen, falls es zu solchen kommt, wegen der Trägheit der Spiegelmasse nicht proportional der Schallenergie zu setzen sein. Wir haben daher die Stefaninische Kugel an eine metallene Glocke von ungefähr derselben Fallhöhe, wie Stefanini verwendete, heranstossen lassen. Unmittelbar nach einem solchen Anstoss wurde die Kugel in die Höhe gezogen, so dass einem zweiten Anprall vorgebeugt war. Durch diesen Kunstgriff wurde der sehr kurze Schallimpuls des ursprünglichen Apparats durch die Resonanz der Glocke in einen gedehnten Klang umgeändert, während die Menge der vom Stosse herrührenden kinetischen Energie dieselbe blieb.

Leider war das Gewicht der Glocke — ein Messglöckchen aus Glockenmetall, das einen sehr schönen Ton f^3 gab — nicht 70 g wie jenes der Stefaninischen grossen Kugel, sondern 88 g. Wir werden diesen Unterschied nachher in Rechnung zu bringen haben.

Wenn die Glocke im Augenblick des Stosses in der Basis des Auffangtrichters sich befand und dazu in der Achse des Zuleitungsrohrs, dürfen wir vorläufig annehmen, dass die Hälfte des Glockenschalls in den Auffangtrichter gelangt. Eine Reihe Beobachtungen ergab folgendes Resultat:

f^3-Glocke von 88 g.

Glocke in der Auffangfläche des Trichters. Spiegeldistanz 2 mm. Bohrung des Zufuhrkanals 3 mm.

Fallhöhe	Spiegelausschlag
5^0	0.25
10^0	0,5
15^0	1,25
20^0	1,8
22^0	2
25^0	4
30^0	5,5
35^0	7
40^0	9,5

Wie der Leser ersieht, ergibt sich, dass eine Fallhöhe von 15^0 einen Schall hervorruft, welcher dem Messspiegelchen einen Ausschlag von 1^0 15' Skalenablesung gibt. Nach § 3 entspricht dieser Ausschlag einem Wert $^5/_4 \times 42$, also rund 50 Phonien, wenn wir keine Schallreflexion in Rechnung stellen.

Vergleichen wir diese empirische Messung — denn hier liegt eine wirkliche Messung vor — mit dem berechneten Wert. Falls wir die 70 g-Kugel genommen hätten, würde der Schall theoretisch

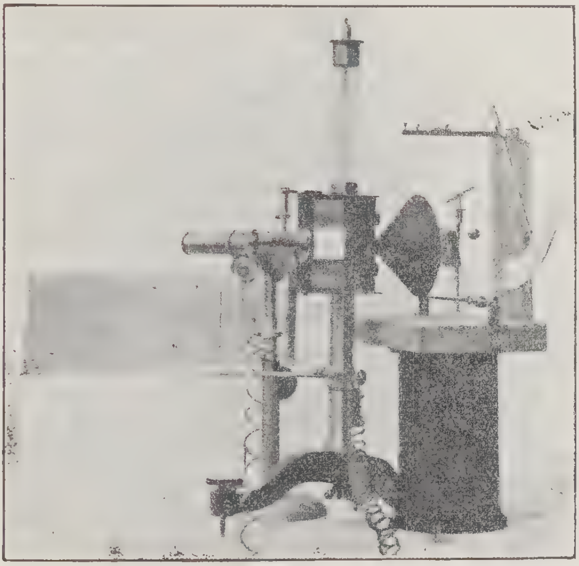


Abbildung 2.
Die Stefaninische Phonie gemessen.
In der weiten Mündung des Auffangtrichters des Phonimeters ist die f^3-Glocke aufgestellt. Unmittelbar nach dem Stoss, bevor der folgende Anprall folgen würde, wird die Kugel weggezogen. Die Skala, an welcher die Spiegelbewegung abgelesen wird, ist der Deutlichkeit wegen gesenkt.

bei 15^0 Fallhöhe etwa 63 Phonien entsprochen haben. Die Elastizität des Metalls der Glocke war jedoch wahrscheinlich unvollkommener als die der Stahlkugel, was nach Stefanini einen grösseren Verlust an Wärme bedeutet. Möglicherweise dürfen wir also, die beiden entgegengesetzten Faktoren, die grössere Schwere und die weniger vollkommene Elastizität, gegeneinander abwägend, die Schallenergie beider Quellen: Kugelstoss und Glockenstoss mit nachfolgender

Resonanz, einander gleichsetzen. Dann wäre der berechnete Wert 62, der empirische bestimmte 50 Phonien. Die Uebereinstimmung beider Zahlen ist befriedigend, wenn wir die vielen Vernachlässigungen und die Unsicherheit des Reflexionsverlustes, den wir vernachlässigten, in Betracht ziehen.

Zusammenfassung.

1. Die STEFANINIsche Schalleinheit (Phonie) ist den physiologischen Bedürfnissen gut angepasst.
2. Nach dem RAYLEIGHschen Prinzip des Einstellspiegelchens lässt sich ein physiologisches Phonimeter herstellen, indem man den eintretenden Schallwellen Zugang gibt durch ein kurzes Rohr von den Abmessungen des Gehörganges. Bei geeigneter Spiegelentfernung und kleinen Winkeln sind die Ausschläge der zugeführten Schallenergie proportional.
3. Die Empfindlichkeit des Phonimeters betrug, wenn wir den vom Auffangtrichter zurückgeworfenen Schall vernachlässigen, 42 Phonien pro Grad der Skalenablesung oder 21 Phonien pro Grad wirklicher Spiegeldeviation.

DESENSITIZATION OF THE HEART FOR BETA-RAYS

BY

G. J. VAN DEN BOVENKAMP.

(Abstract of his Thesis. Utrecht, May 15th 1923).

Different experiments done in the Physiological laboratory at Utrecht had shown that fluorescein had a great influence on the action of radioactive ions. I purposed to examine the influence of other substances on the action of various radio-active metals, and chose the group of cytolysins, which act in very small doses on the cell-surface. During the examination it proved necessary to extend the list somewhat in other directions.

§ 1. **Method of experimenting:**

I used frogs' hearts, suspended by the point to a lever, and perfused through a KRONECKER cannula pushed through the sinus venosus into the ventricle, and fixed with a ligature round the atrium. Perfusion took place by means of three Mariotte bottles.

Preparatory examinations were always done to ascertain the optimal KCl dose, and of course the difference between summer and winter frogs was taken into account, the summer frogs needing far less KCl than the winter specimens. We began the experiments by bringing the heart to a standstill by means of an equilibrium between uranium and potassium chloride. Such a radiophysiological equilibrium, which has been described by ZWAARDEMAKER and several of his co-workers, may be found in the following manner: a heart is perfused with the necessary potassium chloride dose, we then begin to add small quantities of uranylnitrate, of which we will need an equiradioactive quantity of uranium; this is approximately $\frac{1}{10}$th of the potassium dose. Summer- hearts need a much smaller dose of uranium to arrive at a state of equilibrium, sometimes only $\frac{1}{20}$th or $\frac{1}{30}$th of the potassium content being needed.

After the addition of a trace of uranium to the potassium fluid we waited a short time to observe its influence on the heart. If the

pulsations continued regularly too little uranylnitrate was evidently present and more could be added. If the right quantity had been administered the heart stood still in diastole. If too much uranium had been added the heart first stood still but soon began to beat again, this time as a consequence of the alpha-rays. At the moment in which the heart ceased to pulsate in diastole a radiophysiological equilibrium between alpha- and beta-rays had been reached, the potassium radiation being kept in equilibrium by the uranium-rays. When once the equilibrium was found the other substances to be examined were added; in a short time it was evident to which side the equilibrium was shifted, whether this latter belonged to the alpha- or beta-radiators.

I also examined various cytolysins for instance:

a) one-basic fatty acids.

b) blood-serum.

c) alcohols.

LOEB had found that in weak concentrations they always produced membranes on the surface of the cells; in larger doses and applied during a longer period they produced actual cytolysis, killing the cell. This cytolytic action has been most studied in red blood corpuscules; the haemolysis can take place in different ways; viz:

1) Through physical influences, such as changes in osmotic pressure.

2) by means of chemical agents; these are profuse in number. To the substances which produce haemolysis in weak concentrations belong the alcohols, one-basic fatty acids, soaps etc.

3) A third group must be mentioned separately being the haemolytics belonging to serology. These substances are distinguished from those of the former two groups by their thermolability; their chemical composition is unknown. Different experimentors have come to the conclusion that the substances which dissolve lipoids, such as alcohol, ether, fatty acids etc. act best as cytolysins, which may be due to the fact that evidently the lipoids in the perifery of the cell must be dissolved before cytolysis can take place.

Besides these substances LOEB used there are many others; another group which has been examined by Dr. ZEEHUISEN, all of which belong to the alcaloids, will be mentioned later on. Finally I examined a large group of metal salts and found that six gave a positive result. They were Cu, Ag and Au, which were active in small doses and further Mn, Co and Ni, of which larger quantities were needed.

§ 2. The influence of one-basic fatty acids on the radio-active equilibrium.

The hearts were brought to a standstill by means of an equilibrium fluid consisting of

I. 1 mgr. of $UO_2 (NO_3)_2$ and 45 mgr. of KCl per L.
II. 0,5 mgr. of $UO_2 (NO_3)_2$ and 35 mgr. of KCl per L.
III. 0,5 mgr. $UO_2 (NO_3)_2$ and 20 mgr. of KCl per L.

To these we added various quantities of the different salts and determined in which direction the equilibrium was shifted. We examined: formias natricus, acetas natricus, proprionas natricus, butyras natricus, valeranius natricus, capronas natricus and heptyl-acid. In every case the radioactive equilibrium was displaced. The results obtained are summarized in the following table, in which the figures represent the average of the values found in the experiments in milligrams per L.

	Displacement of the Equilibrium	Desensitization for potassium
formias natricus	0,9	0,8
acet. natricus	1,8	1,3
proprionas natricus	1,8	3,3
butyras natricus	1,9	2,3
valerianus natricus	1,6	1,1
capronas natricus	3,6	6.

The figures under desensitization are less correct than those obtained for the equilibrium displacement. And yet it appears clearly from both columns that, in general, more is needed of the higher than of the lower terms to produce either of these processes which, in principle, are the same. The surface activity increases in this series of one-basic fatty acids as one ascends. If their action depended on this last-named quality one would expect that less was needed of the higher terms than of the lower ones. The action partially depends, however, on the dissociation, which decreases as one ascends in the series; to obtain a certain number of ions, one must take more of the higher than of the lower fatty acids. This coincides with the figures in the table.

From the experiments we see that the equilibrium is broken in such a manner that the Alpha-radiation gains the upper hand; the heart is desensitized for potassium by the fatty acids, which are, moreover, active in very weak concentrations. Propionic acid, butyric acid and valerian acid were the most active. Spiro discovered a phenomenon which is in accordance with this latter fact, during

his researches on the toxic action of inorganic and organic acids in connection with the H- ion- concentration. It appearad that the fatty acids are much more toxic than their H- ion- concentration would lead us to expect; he explained this by pointing out that these substances are easily soluble in the cell- lipoids, as contrasted with inorganic acids. We might explain the incongruence which seems to exist between quantity and activity of the fatty acids with respect to the frog's heart in the same manner. The displacement of the equilibrium to the alpha- side can be explained by the desensitization for potassium, the fatty acids hamper the potassium action in some manner; they do not entirely prevent this action but only decrease it. One cannot arrive at an explanation by simply accepting that a decrease in permeability of the cell surface appears, for the beta-particles of the potassium will not be prevented by this from penetrating into the cell.

§ 3. The Influence of alcohol on the radio-active equilibrium.

Next various alcohols were examined. The cytolytic action of these substances, already proved by Loeb and Baldwin in their experiments on parthenogenesis of sea-urchin's eggs, probably depends on their power of dissolving lipoids. We examined aethyl alcohol, propylalcohol, and isobutylalcohol. It appears that alcohols also have a desensitizing action for potassium.

The average of the figures found in the experiments may be seen in the following table:

	Displacement of equilibrium in gtt. per L.	Desensitization for potassium in gtt. per L.
aethylalcohol	15	15
propylalcohol	15	15
isobutylalcohol	50	40

The action of the alcohols is identical with that of the fatty acids, with respect to the displacement of the equilibrium as well as to the desensitization. There is a great difference in quantity, however, the fatty acids already working in concentrations of 1 : 100,000, whereas the alcohols must not be diluted more than 1 : 1000. Just as with the fatty acids the alcohol with the greatest surface activity appears to be least active. It will be seen from the above-mentioned table that the strongly active isobutylalcohol appears to have the same influence on the radio-active equilibrium in a three times larger dose than the far weaker aethylalcohol.

§ 4. The influence of blood-serum on the radio-active equilibrium.

Clark had alread described the reviving influence of serum on an isolated hypodynamic frog's heart. It appeared to him that this action was due to the substances in the serum which were soluble in alcohol, so chiefly lipoids; he also found that serum had a greater influence on a hypodynamic than on a fresh heart which would also be due to the fact that the former had lost most of its lipoids and that, therefore, the cell-wall was more permeable.

I examined the influence of serum on the radio-active equilibrium, in the same manner as in the first experiments, and found a) that rabbit-serum displaces this equilibrium, b) that this serum desensitizes the heart for potassium, c) that the equilibrium is shifted to the alpha-side. With respect to a) we must raise the question whether it is not possible that the potassium present in the serum is responsible for the disturbance. The average quantity of K. present in serum is calculated at approximately 0,25 mgr. per c.c.; I used at most 4 c.c. so 1 mgr. of potassium which, dissolved in a L. of Ringer solution, could scarcely be expected to show any effect in these experiments, which were not done with summer but with winter hearts which needed approximately 25 mgr. of K. p. L. The Ca. in the serum is present in too small quantities to be of any influence.

The "inactive" serum, heated previously to 56^0 was just as active, for these experiments, as fresh serum. The question arises: what substance in the serum can be made responsible for this action. According to some authors there is a considerable quantity of fatty acids in serum viz: 6 to 19 mgr. to every 30 c.c. of horse serum. If we suppose that the fatty acid content of rabbit serum does not differ much from these figures, then we added approximately 1 : 1,5 mgr. of the fatty acid to 1 L of fluid with the serum. From the foregoing experiments we saw that such quantities of fatty acid are sufficient to displace the radio-active equilibrium. This explanation of the action of serum is entirely in accordance with the fact that inactive serum has the same effect as active serum. There are, however more substances in serum which might be the cause of the phenomenon, which have not yet been examined, for instance cholesterin, which cannot be used in the perfusing fluid, as it is not soluble in water but in alcohol, which is not indifferent.

I did several experiments with lecithin and found that this sub-

stance also shifts the equilibrium to the alpha-side, and that it desensitizes the heart for potassium. Loewi came to the same conclusion, only in a different manner. He believes that a heart becomes hypodynamic through an intense K. action, which is the result of an insufficient Ca. action, which again is caused by a loss of lipoids. He was able to revive a heart almost entirely intoxicated by potassium by simply adding lecithin whether it was intoxicated by removing the Ca. or by giving too much K.

Some authors (Faust, Tallquist) believe that this action of lipoids is dus to fatty acids in the lipoid itself.

§ 5. A desensitizing group of oligo-dynamic elements.

Detmar had already proved that Mg, was inactive in the series Ca, Str, and Ba, and that the activity of these metals increases with their atomic weights. I also found that Be, had no desensitizing influence, as we already expected.

Of Calcium this same quality has already long been known, as we may deduct from the formula Na : Ca : K is constant. Instead of Ca. we may insert Sr. and, under certain conditions Ba, from which follows that all these elements are desensitizors for K, (or eventually for U. and Th.). Höber examined a group of metals, Mn. Co. en Ni, which also desensitize the heart for potassium, and moreover a separate series Cu. Ag. and Au. The action of $Cu\ SO_4$ which precipitates in the fluid must be ascribed to a small oligodynamic quantity of Cu. ions, wich are able to desensitize the heart for K; Ag. acts in the same way. I used electrargol to try the effect of colloidal silver, but even this soon produced a white cloud of AgCl.

The Au. (as goldchloride) does not precipitate; a few drops (10—20 of a ½% solution) already suffice to produce desensitization. It is curious, however, that the displacement of the equilibrium with Au. cannot be shown in the ordinary manner hitherto used. If a heart was brought to a standstill through too much potassium addition of goldchloride produced no pulsations. If, however, a heart was beating on a sufficient potassium dose and was then perfused with a fluid containing too much K, and also a sufficient dose of goldchloride, the heart continued to beat, whereas it stood still immediately if the same fluid was used without Au.

I also found that the same desensitization took place if Ur. was used instead of K. (the same quantity of goldchloride is used, 1 to 2 mgr. per L.) which at once proves that no shifting of the equi-

librium can take place. The experiments with these metals are difficult as they are all more or less toxic, the results are therefore not as convincing as of the former experiments. We must here mention the fact that if a substance appears not to have a desensitizing action the cause may lie in an equal influence on the beta- and on the alpha-rays.

Dr. Zeehuisen examined various alcaloids in their action on the isolated frog's heart. Several appeared to displace the radio-active equilibrium, others had no influence. For instance quinine, eucain, pilocarpin, spartein, all shift the equilibrium to the alpha-side; nicotin, cinchonin shift it to the beta side, and lobelin, caffein, strychnin, morphium, papaverin, pyridin, and atropin have no influence on the equilibrium. The alcaloids which disturb the equilibrium also have a haemolytic action, even in very weak concentrations. The others which are of no influence on the equilibrium cause no haemolysis, even in much stronger concentrations.

Zeehuisen also found that the surface-tension of water was lowered by adding many of these alcaloids. And yet the surface-activity alone is not sufficient to explain these disturbances in the equilibria; these are the result of the quantitative differences in actions which counteract one another. If one wishes to be satisfied by a certain explanation the values found must coincide, and this is by no means the case. We see from the experiments that one-basic fatty acids cause a displacement of the equilibrium in a concentration of 1 : 100,000, while sodium glycocholate, which has a much greater action on the surface tension of water, only influences the equilibrium in a concentration of 1 : 5000 The only thing we may conclude from these experiments is that the phenomenon is in some way connected with the surface tension, in somewhat the same manner as we find in cytolysis and haemolysis.

Summary.

If fluorescein, eosin, adrenalin and cholin are in the perfusing fluid the heart needs less potassium than if these substances are lacking. According to experiments of Streef fluorescein and eosin attach themselves to the endothelium of the heart; the eosin is able to decrease the adsorption of fluorescein, which can be proved by bringing the fluids in contact with adsorptia, J. B. Zwaardemaker found the same with adrenalin and cholin but in this case the effect is vice-versa. Beside these sensitizing substances desensitizing agents are also found, substances which hinder the potassium adsorp-

tion, in consequence of which more potassium must be added to a heart, calcium, strontium and baryum being the first elements which proved to have this action. Further we found that a good method of tracing these substances lay in the radio-physiological equilibrium, in which the heart stands still through the simultane ous presence of the negative beta-rays of the potassium and the positive alpha-rays of the uranium. If now, the heart begins to beat on adding the substance to be examined then one of the two components of the equilibrium gains the upper hand. At first one is uncertain which of the two radiophysiological elements has the advantage above the other; this can however, easily be discovered by ascertaining which of these two elements must be added to obtain a new equilibrium. The substance which breaks the equilibrum can act as sensitizor.

To determine this the experiments described in the foregoing paragraphs were needed. In this manner we found:

1°. That substances belonging to the group of the cytolysins break the equilibrium in such a manner that an extra quantity of potassium must be added to reestablish it.

2°. That this is not the action of a sensitizor for alpha-rays, but of a desensitizor for beta-rays; in other words the action of potassium is hindered by the cytolysins, (no other explanation being possible if one considers the experiments.)

These processes are evidently independant of the calcium action in the RINGER'S fluid, the cytolysins not being influenced by Ca. This was proved by establishing equilibria while adding a high as well as a low Ca- dose. A third group of desensitizors was found in the oligodynamic metals: copper, silver and gold; as we saw in par: 7 very minute quantities are sufficient to transpose the radio-physiological equilibrium. The same minute quantity also suffices to raise the limit at which a potassium dose has a toxic action, for when adding these metals more potassium is needed to intoxicate a heart than without them. On the contrary if one has caused a heart to stop beating through potassium intoxication one can revive the pulsations by adding one of the oligodynamic metals.

3°. A fourth group is found in manganese, cobalt and nickel. Höber had already demonstrated that these metals raise the toxic limit of potassium, just as copper, gold and silver; he used quantities of 200 mgr. per L., while we also found that such quantities were needed to break the equilibrium. So far the difference between these metals and those of the former group is only a quantitative one,

the active dose of the oligodynamic metals being almost identical with the toxic one, whereas manganese, cobalt and nickel are already active in minute quantities, There are, therefore, four groups of desensitizors which stand far apart chemically. Three of these are metalions, a fourth can be summarized under the name of cytolysins. The three groups of metals belong to different series of the periodic system of Mendelejeff, the members of each separate group being chemically related to one another. Let us first consider the series to which Ca. belongs, consisting of the following metals placed under each other: Beryllium, Magnesium, Calcium, Strontium and Baryum. I examined the action of Beryllium on the frog's heart, when it appeared that the radiophysiological equilibrium was not disturbed, even by large quantities of this metal. No desensitizing power can be ascribed to it, therefore, neither could we detect any injurious influence of this element.

4o. The second term of the series, magnesium also possesses no power of influencing the radio-physiological equilibrium. When using larger quantities a slightly injurious action was detected.

Ca, which follows magnesium possesses all the qualities which characterize it as a potassium desensitizor. It transposes the radio-physiological equilibrium and raises the limit at which potassium becomes toxic. We will remark here that the action of calcium of which we are speaking must be strictly distinguished from the antagonistic action of calcium towards potassium, which is spoken of in the various researches on balancing ions. Strontium is exactly the same as calcium; baryum can also, in principle, be bracketed with the two latter elements, with this difference, however, that one has to do with a far more toxic substance, which often causes great difficulty in experimenting, the active and toxic doses being often almost identical so that an experiment can generally only be carried out for a short time. If one wishes to group the elements out of the series of the periodic system according to their action, one arrives at the following order: Be. Mg. Ca. (Sr.) Ba. Copper, Silver and Gold also stand in a vertical series, all three of these metals being desensitizors. In the periodic system Copper stands first, then Silver and finally Gold. As far as the toxic action is concerned Copper also comes first, followed by Silver and then by Gold, which we may conclude from the time in which these metals begin to intoxicate a heart. The differences here, however, are not great, as all three metals are soon toxic in their action. It is therefore, difficult to determine the quantities accurately in which

these substances act, excepting gold, which does not precipitate in Ringer's fluid as the other two elements do. It is curious to notice that, when one considers this latter group of metals and the former one (Be Mg. Ca. Sr. and Ba) in the first group the metal placed first in the periodic system (Copper) appears to have the strongest action while the activity diminishes in each lower-placed element; in the latter group, however, we see just the opposite: the activity increases as one descends in the system.

The following group of metals, Manganese, Cobalt, and Nickel are also placed underneath one another in the periodic system, but succeed eachother in the order in which they are printed here, the quantities in which these substances act on the radiophysiological equilibrium being practically equal. In the periodic system Iron is placed between Manganese and Cobalt. One would suppose that Iron would act in the same dose as these two latter metals but it is immediately precipitated in Ringer's fluid. Of course a small quantity remains in solution, just as with Copper and Silver, but it stands to reason that these are not quantities of 200 to 300 mgr. per L, which are the quantities we would expect to be necessary in this case. It is therefore impossible to examine Iron under these circumstances. The question now arises: How must this action of the metal ions be explained?

If we wish to form an idea of the action of these ions with respect to the radio-active ions, it is necessary first to try and understand the manner in which the latter ions influence the muscle-cells. If these radio-active ions are to influence the muscle cells they must come in contact with the cell itself.

Firstly one might think of a chemical combination of the ions with the cell-protoplasm; Secondly an adsorption might take place, this latter posibility being the most probable one, according to ZWAARDEMAKER; for if one brings a heart alternately under the influence of different radio-active substances the organs react almost immediately, while the process is also immediately reversible, this fact being entirely in keeping with the characteristics of an adsorption but not of a chemical combination. We accept, therefore, that radio-active ions are adsorbed by the muscle cells. During a radio-active equilibrium two sorts of radio-active ions have been adsorbed by the cell; if one of the above-mentioned metals disturbs such an equilibrium one can suppose that the radio-active ions are substituted by the metalions. These radio-active ions will not be substituted in equiradioactive quantities which will result in the domina-

tton of one of the two radio-active elements on the surface of the cell so that the equilibrium is broken.

If the metal ions are to cause such a substitution, they must be present in sufficient quantities. The concentration of the metal-salt added must be of the same order as the concentration of the quantity of potassium chloride present in the fluid.

In the calcium group this condition is satisfied, and the action can, therefore be explained by adsorption. This is the same in the Manganese, Cobalt, Nickel group. The fact that the concentration is in relation with the quantity adsorbed is supported by what we learn from physical chemistry on this subject, expressed in the following formula:

$$\frac{x}{m} = ac\frac{1}{n}$$

in which x represents the quantity of substance adsorbed, m the quantity of adsorbing material, c the concentration of the substance which is not adsorbed, and a and n are empirical constants. $\frac{x}{m}$ can be looked upon as the representation of the concentration of the substance adsorbed to the surface of the cell, as the quantity of the adsorbing material m is directly proportional to its surface. It is a well-known fact that metalions increase the surface-tension for the air-water layer, and will, therefore, not accumulate in this layer. If this was also the case for the protoplasm-water layer the adsorption to the cell-surface would be impeded. We have no reason, however, to accept that what has been proved for the air-water layer also holds good for the protoplasm-water layer.

According te LEWIS the surface-tension in the carburetted-hydrogen- oil layer is decreased by different inorganic salts, such as: $AgNo_3$, Ca Cl_2 KCl, $BaCL_2$; these substances will therefore, accumulate in this layer, we may not, however apply the facts proved by LEWIS for this layer to the protoplasm-water layer. As long as one does not exactly know which substances are found in the surface of the cell and in what proportion they exist there no explanation will be found for the physiological processes which take place when different substances are taken up into the cell.

NEUSCHLOSZ examined the influence of potassium and of sodium, in different concentrations of lecithin; each of these metals separately increases the surface tension. When used together in a proportion of Na : K = 20 : 1 no sign of a rise in the surface-tension is seen. Coincidentally these elements are found in the RINGER solution

in just these proportions. These researches of NEUSCHLOSZ' may help us to explain the adsorption to the cell-surface, as several authors believe the surface to consist chiefly of lecithin. The accumulation of the metal-ions in a certain layer is, therefore, also determined by the proportions in which they are found in the solution. It is perhaps possible that the metals I used accumlate in the protoplasm-water layer, as their proportions in the perfusing fluid were just such that the surface-tension of this layer was lowered.

In trying to find an explanation for the action of the oligo-dynamic metals one encounters another difficulty. These ions already act in a minimal concentration; if a certain number of ions in this afore-said concentration are adsorbed by the muscle cells it would be difficult to accept that these few ions would be able to substitute a considerable portion of the other ions which are present in a far greater quantity. We can, however, think of an explanation. The phenomenon of the toxic action of copper ions, in very weak concentrations on algae is well-known. This is explained by accepting that the copper ions accumlate on the surface of the algae and are, therefore, present in far greater concentration than in the surrounding fluid. We might imagine a similar accumlation of the oligo-dynamic ions on the surface of the muscle-cell. Another reason for accepting this may be found in the results of experiments which were begun with quite another object in view. If a heart is perfused with a calcium-free fluid it will generally continue to beat for some time. If one adds copper-sulphate to such a fluid no increase in tonus is seen, which however is immediately visible if Ca. was already present in the fluid. If one adds calcium chloride after the addition of copper no such increase apprears. It is only after one has perfused with a fresh fluid containing Ca. but no copper that an increase of the tonus immediately manifests itself; in other words, if copper is to cause a rise of tonus calcium must be present previous to the addition of copper. If the copper has once been adsorbed by the cells which have been more or less deprived of their calcium the calcium cannot take the place of the copper ions. Copper is certainly able to take the place of the potassium, which may be seen from the tonus which arises when copper is added to the fluid containing Ca. If we perfuse, after addition of Cu, with a Cu- free but Ca- containing fluid a part of the Cu. is washed out and the Ca. could be adsorbed, while the remaining Cu evidently prevents the adsorption of the potassium.

Furthermore we must not foget, in seeking for an explanation of the oligo-dynamic metals, that in small concentrations the adsorption is considerably larger than in strong ones. If one considers the adsorption of acetic acid in aqueous solution to animal charcoal it appears that when the value c (see above - mentioned formula) increases from o, o2 to 2, the value of $\frac{x}{m}$ increases from o, 4 to 4.

The explanation of the desensitizing action of metalions by means of cytolysins is not so simple, These cytolysins have the power of dissolving cells and moreover of forming membranes in the eggs of sea-urchins. We see from Loeb's experiments on artificial fecundation that cytolysins caused a thickening of the outer layer of these cells: he explained this phenomenon by the well- known fact that cytolysins dissolve the lipoids in the perifery of the cells. Overton's opinion that each cell possesses an outer layer of lipoids and that cytolysis depends on a solution of this layer is incorrect, according to Loeb, who considers the protoplasm to be a colloidal solution, in which a lipoid phase exists. Complete cytolysis would take place when these lipoids are dissolved; a solution in the perifery only would create a membrane which was not formed only of lipoids and was, therfore, not soluble in benzol and other lipoid dissolvents.

W. Straub also adheres to the theory of a membrane; he considers the artificial fecundation in connection with a change in permeability of the membrane caused by the cytolysins. Straub grounds this hypothesis on his researches on anaesthetics, in which he considers that the membranes of the nerve cells have temporarily become entirely impermeable. A partial disturbance in the permeability, in this case a partial decrease in permeability would be the cause that intracellular processes are led into new paths, as we may see in the artificial fecundation. Jarisch, Tröndle and Osterhout also published researches which lead us to accept that cytolytic substances in small concentrations decrease the permeability of the outer cell- layer, while their action is reversible. Now the general opinion is that potassium increases the permeability, and if an increased permeability has once been established potassium will not only be adsorbed to the surface of the cell but will also be able to penetrate the cell for a certain distance and become adsorbed at a greater depth, so that the possibility of potassium adsorption is fairly large. It is, however, checked by another element, viz: Ca., as this metal decreases the permeability; perhaps

this is one of the reasons why Ca. is indispensable in the perfusing fluid. If now, a cytolytic substance is added to the Ringer solution which also alters the permeability, the Ca. will have obtained an ally and the potassium an antagonist, the penetration of potassium to a greater depth being now prevented. The desensitizing action of the cytolysins might be explained in this manner.

Many researchers accept that cytolytic substances increase the permeability, others that they lower it, but all are of the opinion, that the cytolysins attack the surface of the cell, at all events in small concentrations, and that their action is reversible. My own experiments also shewed a swift and total reversibility of the cytolytic action.

This reminds one of processes of adsorption, as generally chemical processes of organic substances do not take place so swiftly and so completely.

The action of cytolysins in such weak concentrations may be explained by their power of lowering the surface-tension, so that they accumulate on the surfece. The cytolysins do not only possess this surface activity for the air-water layer but also for many other substances such as benzol-water, oil-water. We may, therefore, accept that they also accumulate in the protoplasm-water layer. If this is true the concentration in this layer will probably be sufficiently strong to render it possible for the cytolysins to act as substitute for other adsorbing substances. All the substances treated in this research proved to be desensitizors. There is however, also a group of sensitizors for instance: fluorescein, eosin, adrenalin, and cholin. We may conclude from experiments that these substances also become adsorbed. As they are sensitizors this adsorption is not combined with a substitution of the radio-active ions but evidently the power of adsorption of the latter ions is increased. One could imagine that something takes place here which might be compared to the simultaneous adsorption of acetic acid and alcali-metal-salts to animal-charcoal; (the adsorptionconstant of acetic acid alone is 2-93, of acetic acid and KC1 = 3.16). It is not impossible that a similar increase of the adsorbent power also takes place in the case of fluorescein. In this manner their sensitizing action would be explained.

Conclusions.

1. Different cytolytic substances, such as one-basic fatty acids, alcohols, blood-serum and certain alcaloids disturb the radiophysiological equilibrium.

2. Excepting a few alcaloids the substances mentioned in 1 shift the equilibrium to the alpha-side.

3. As far as I have examined this shifting towards the alpha-side is caused by a desensitization of the heart for beta-rays.

4. Rabbit-serum, heated to 56⁰ behaves towards this shifting and desensitization as unheated serum.

5. A series of metals, copper, silver and gold shift the radio-physiological equilibrium to the alpha-side.

6. These metals act in oligo-dynamic doses.

7. The above-mentioned series of oligo-dynamic metals desensitizes the heart for beta-rays.

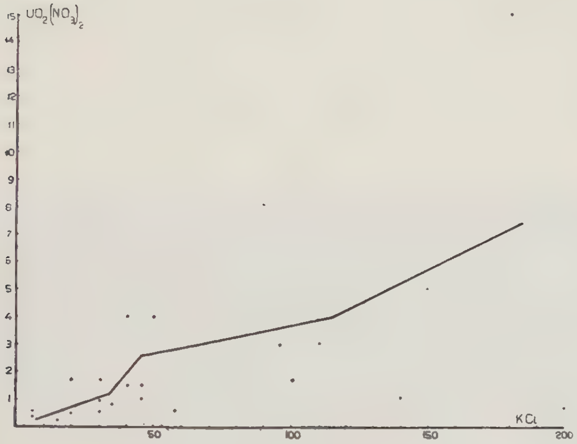


Fig. I.

The graphic representation of 25 radio-physiological equilibria found in the summer of 1921.

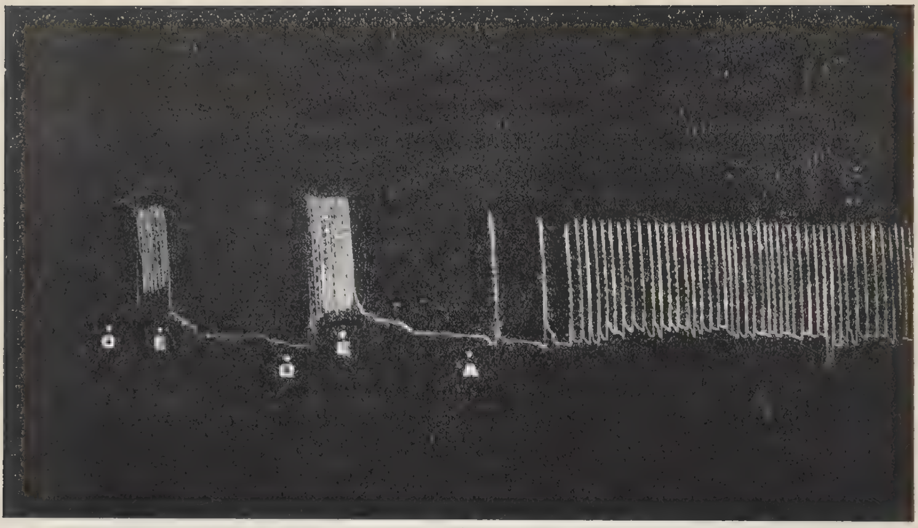


Fig. II. The above curve should be read from left to right, 1 cM = 18 sec.

At O/ a heart is beating on potassium- free Ringer. At E we perfused with an equilibrium fluid, containing UO_2 $(NO_3)_2$ and KCL in the right proportions. The heart stood still in consequence. The same was repeated once more: after a short perfusion with potassium-free Ringer (O) pulsations again appear, which disappear once more on adding equilibrium fluid.

To this fluid we added aethylalcohol during the heart's standstill, in consequence of which the equilibrium is broken and the beats reappear. These have the character of alpha-pulsations: lower frequency, irregularities, lengthened diastole, and increase of tonus.

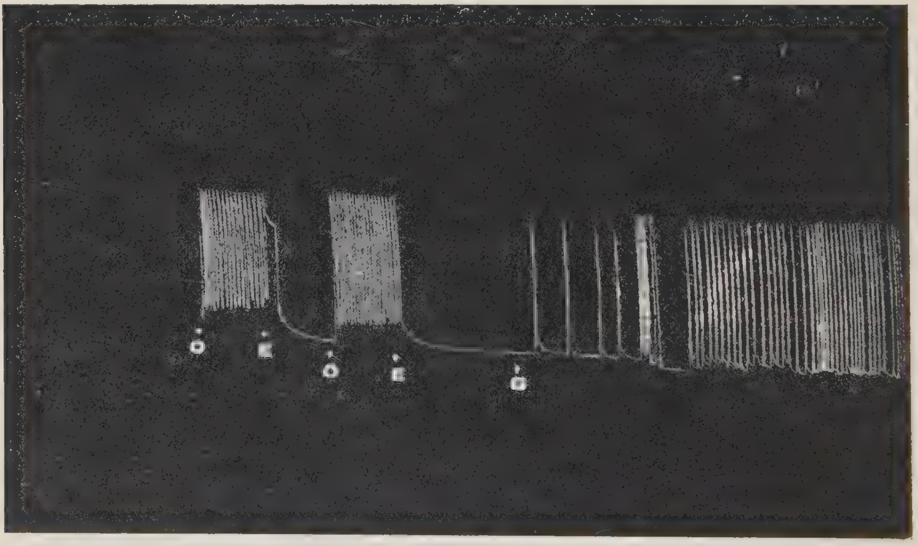


Fig. III. Above curve should be read from left to right. 1 cM is 18 sec. A heart beating on potassium- free Ringer (O) is brought to a standstill by perfusing with an equilibrium fluid, (E) which contains UO_2 $(NO_3)_2$ and KCL. This is repeated, and subsequently cholic acid sodium (G) is added to the fluid, which breaks the equilibrum. The pulsations which appear are of the alpha-type: lower frequency, irregularities and a slightly lengthened diastole. Increase of tonus is present but not very evident.

LITERATURE.

Bechhold. Munch. Med. W. Schrift No. 63.
Physol. Lab. (6) dl. 2 p. I.
Clark. Journ. of Physiol. Vol. 47. p. 66.
„ „ „ „ Vol. 54. p. 267,
Danilewski Journ. de Physiol. et de Pathol. norm. IX p. 909.
Detmar. Acad. Proefsch. 1919. Utrecht.
T. Feenstra Acad. Proefsch. Utrecht. 1921. Onderzoekingen Physiol. Lab. (6) Dl. 2 p. 1.
E. S. Faust. U.T.W. Tallquist. Arcg. f. exp. Path. Bd. 57.
R. Höber Pflug: arch. Bd. 182. p. 104.
R. Höber Physik. Chemie der Zell u-d. Gew. p. 162. 5e Aufl.
Jarisch. Pfl. Arcg. Bd. 186. 1921. p. 299.
v. Knaffl-Lenz. Pfl. Arch. Bd. 171. 1918. p. 51.
J. Loeb. Ges. deut. Nat. forscher 1912.
J. Loeb. Pfl. Arch. Bd. 122. 1908. p. 199.
J. Loeb. Oppenheimers HdB. der Biochemie. II[1]. p. 85.
Lewis. Philos. Mag. (6) p. 17, 1909.
Loewi. Pfl. Arch. Bd. 187. p. 123.
Lemeland, C. R. Soc. de Biol. 84. No. 12. 1921. p. 61).
Loeb and Baldwin. Biol. Bull. of the Marine biol. Lab. Vol. 38. Nr. 3.
Locke and Rosenheim. Journ. of physiol. Vol. 36. p. 205. 1917.
P. Mitchell and J. Wilson. Journ. of Gen. Physol. Vol. IV. p. 45. 1921.
Neuschlosz. Pfl. Arch. Bd. 181. p. 17.
Overton. Pfl. Arch. Bd. 92. 1902.
Osterhout. Scienne 37. III.
„ Journ. of gen. Physiol. Vol. III p. 611.
S. Ringer. Journ. of Physol. Vol. III p. 380.
„ „ „ „ Vol. Iv p. 29 and 222.
„ „ „ „ Vol. V. p. 247.
Salen. Bioch. Zeitsch. Bd. 110. 1920 p. 176.
Spiro. Oppenheimers Hdb. d. Bioch. Bd. II[1] p. 28.
Tröndle. Bioch Zeitsch. Bd. 112. 1920.
Yoshitomi. Acta. Schol. Med. Kyoto. e. 1920 p. 339.
H. Zeehuizen. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 86. 1920.
H. Zwaardemaker. Zittingsverslag Kon Akad. v. Wetensch. 29 Sept. 1917. Vol. XX. No. 6 p. 768.
H. Zwaardemaker. Zittingsverslag. Kon. Akad. v. Wetensch. Deel 25. p. 517.
„ „ Kalium-Uranium antagonisme. Kon. Akad. v. Wetensch. 1917. Dl. XXV. p. 1096.
H. Zwaardemaker. Pfl. Arch. Bd. 173. p. 28.
„ „ Ergeb. der Physiol. Bd. XIX. p. 327. 1921.
H. Zwaardemaker en Feenstra. Ned. Tijdschr. v. Gen. 1911. Vol. 2 p. 1923.
J. B. Zwaardemaker. Diss. Utrecht. 1922.

CAESIUM AND THE HEART

BY

E. SMITS.

(Abstract of his thesis, Utrecht June 26th 1923.)

---

§ 1.

The chemical relationship between potassium, rubidium and caesium had already induced RINGER, in 1883, to examine their physiological resemblance. To this purpose he substituted the potassium chloride in the perfusing fluid by rubidium and, eventually, by caesium chloride in equimolecular quantities. He found that Rb could replace potassium in every respect; a heart beating normally with this element in the fluid for a considerable time, without any visible change in the contractions. With caesium, on the contrary, he obtained quite other results, although he also took an equimolecular quantity. He came to the conclusion therefore, that, physiologically, caesium behaves in a manner different to potassium. It certainly counteracts the detrimental influence of Ca. on the dilation, just as potassium and rubidium and it also lengthens the period of diminished sensitivity for a faradic current, just as these two elements; it is also possible to cause a heart to pulsate for some time on Cs, but the contractions become broader, the tops of the curve rounder and lower.

In 1916 ZWAARDEMAKER pointed out the biological importance of potassium as a radioactive substance, and showed that it could be replaced by other radioactive elements, alpha- as well as beta-radiators. The necessary quantities of these other elements can be calculated by comparing the kinetical energy of the radiation, taking the difference in penetrating power into consideration. These doses practically correspond to the quantities found experimentally. Further he discovered the existence of a phenomenon he named paradoxon I, II and III.

Paradoxon I is the cessation of pulsations in a heart when the alpha- and beta-radiators in the perfusing fluid are in equilibrium. Paradoxon II is the same, but now obtained by a radioactive radiation

outside the circulating fluid, and paradoxon III appears when the heart has been perfused for a long time with alpha- and beta-radiators. The beats then only reappear when the heart is perfused with potassium-free RINGER.

As Cs. had been supposed to possess radioactive properties, from a physical side, experiments were done with this element to discover possible biological qualities pointing to radioactivity. The following facts were found: firstly that hearts could beat for a considerable time on a suitable quantity of CsCl, secondly that the necessary quantity of CsCl. was much larger than the KCl-dosis and slightly higher than the RbCl; thirdly that potassium, Rb. and Cs. could be used promiscuously without the appearance of a paradoxon; by changing Cs. to U. or Th. however, a paradoxon appeared; fourthly that the heart pulsating on Cs. remained sensitive to electrical stimuli, just as the potassium and Rb. heart; fifthly that in a heart sensitized by fluorescein caesium appears to be on the same side as potassium.

Sixthly there is a biological antogonism between

$$\left.\begin{array}{l}\mathrm{K}\\ \mathrm{Rb}\\ \mathrm{Cs?}\end{array}\right\}\begin{array}{c}\leftarrow\\ \rightarrow\end{array}\left\{\begin{array}{l}\mathrm{U}\\ \mathrm{Th}\\ \mathrm{Em}\ \text{(niton)}\\ \mathrm{Ra}\end{array}\right.$$

Seventhly Cs in all probability emits beta-rays of very slight penetrating power, which are responsible for the action which resembles K and Rb.

§ 2.

Besides the well-known elements uranium, thorium, radium etc. other materials exist which possess a feeble activity, partly caused by the emanation which is constantly present in the air, by superficial activity resulting from exposure to radioactive material in the air, and the influence of penetrating gamma-rays proceeding from the air and from the atmosphere, and partly by the presence of traces of the known radioactive substances as impurity. The elements lanthanium and cerium owe their activity for instance to traces of actinium (RUTHERFORD).

In potassium and rubidium, however, Campbell and Wood discovered an activity which appears to be actually specific, a characteristic of the atom itself. Preparations of all sorts, potassium of a mineral as well as of a vegetable origin gave the same activity; differences of temperature were of no influence, different lighting

also not. The quantity of radium contaminating potassium salts is far too small to be the cause of this activity.

Campbell showed that potassium emitted only beta-rays. No beta-radiating product with a long period is known which is not gradually converted into an alpha-radiating product, so that it is impossible that the beta-rays are emitted by a known beta-radiator, (RUTHERFORD).

To the elements related to potassium and rubidium belongs, in the first place, caesium. The expectation that this element also would display activity had not been confirmed at first, just as in the case of sodium and lithium. As the order in the periodic system of Mendelejeff, potassium-rubidium-caesium, would cause one to expect in this last element more numerous but softer rays than in rubidium, it is possible that these rays are lost to our mode of observation. As, therefore, it was still doubtful whether caesium was radioactive or not, Prof. W. E. RINGER carefully examined various preparations of the element. He not only examined the ordinary commercial preparation of caesiumchloride, but repeated the experiments after having purified the caesium three times. The ordinary commercial caesium appeared to be feebly active (a flat ionisation-chamber and a very sensitive quadrant-electrometer were used). After this treble purification however the caesium had lost almost all its activity; it is, however, not possible to influence the activity of potassium and rubidium by purification.

Is the substance removed from caesium by purification perhaps one of the known radio-active elements, or is it the unknown substance with an atomic number 87, which belongs under caesium in the system of Mendelejeff?

The object of this research was to substitute potassium by caesium once more, as Ringer had done formerly, noting the doses very carefully, to compare them with potassium, also using the trebly purified caesium as a control. To these experiments I added a research on the influence of sensitizing substances applied to hearts perfused with caesium, and the behaviour of caesium in the presence of other radioactive elements.

§ 3.

The apparatus hitherto used (3 Mariotte flasks, each communicating by means of a glass tube with stopcock with the Symes' cannula on which the heart was fixed) was replaced by a circulatory system, in which the fluid from the two outer flasks, after having perfused

the heart could return to the bottles; only the centre bottle was used as a Mariotte flask, the other two were furnished with a small funnel passed through a hole in the stopper. The Symes' cannula to serve the purpose of overflow, thus causing the height of the column of fluid, and therefore the pressure in the heart to be constantly equal.

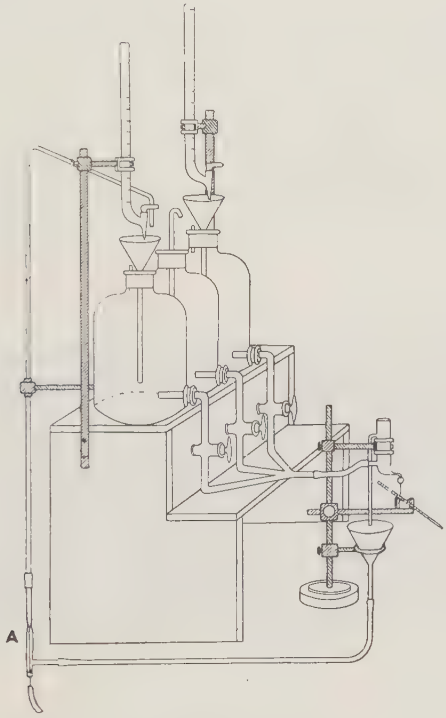


Fig. 1.

Apparatus for the circulation of the fluid. The air enters at A. in little bubbles, owing to which the pressure of the column above A gets smaller than the one of the connected fluid — column in the supply — tube and the fluid of A is pushed upwards.

On using one of the outer bottles, the fluid entered the heart, and passed through the overflow, falling into a funnel, which was connected by a glass tube to a pump apparatus which blew bubbles of air along another glass tube leading to one of the two outer bottles, the air bubbles sucking the fluid from the funnel with them. The centre flask was always reserved for potassium-free Ringer, while the fluid in the two outer bottles could be supplied with the

active substance to be examined in any desired quantity by means of a buret fixed above the bottle. This arrangement was especially excellent for determining the optimum, maximum and minimum doses.

The experiments were carried out as follows:

First the heart was perfused with potassium-free Ringer to remove the diffusible potassium. When the heart had come to a standstill one of the side bottles was used, the pump apparatus started and the funnel placed under the heart. If another active substance was to be used the heart and tube were first washed out with potassium-free Ringer.

The contractions were registered on a sooted drum, by a lever attached to the heartpoint with a serrefine. The point to be remembered in making the RINGER solution is that if high doses of caesium are used a smaller concentration of NaCl should be taken, as the greater osmotic pressure of caesium + the ordinary NaCl dose causes tonus.

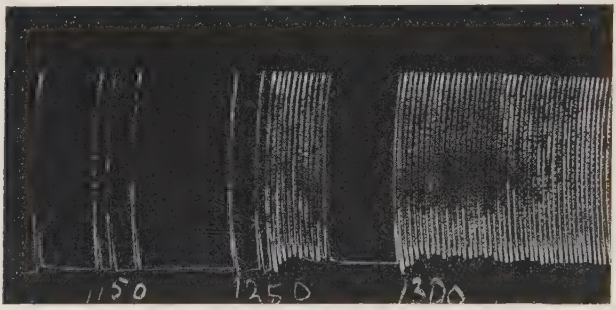


Fig. 2.
Determination of the minimum-dose. Curve should be read from left to right. At first one single contraction resulting from a touch of the finger. At 1150 mgr. of CsCl. p. L. a few spontaneous contractions follow. At 1250 mgr. of CsCl. p. L. a small group is formed and only at 1300 mgr. p. L. the contractions continue regularly. Minimum 1300 mgr. of CsCl. p.L.

In determining the minimum doses of potassium or other substituting element the following facts should be remembered: I accepted as minimum dose the smallest quantity of active substance which caused the heart to beat regularly for at least five minutes. The required dose of radio-active substance is dependant on many factors.

Firstly there is always potassium in the heart-cells which is partly diffusible, but is partly firmly fixed in certain combinations. Potassium is always washed out during perfusion with potassium-free solutions, a certain quantity being obstinately retained in spite of repeated perfusion. The necessary dose of potassium after a standstill caused by a potassium-free perfusion, is therefore larger than before. In the same manner a heart which has been brought to such a standstill sometimes begins to beat again after a time, which phenomenon can even be repeated; (potassium regenerated out of the cells from fixed combinations). After a standstill of 10 minutes, however, a heart very seldom begins again of its own accord. I therefore exacted that my hearts stood still for at least 10 min. while during this period a mechanical stimulus might only give rise to *one* contraction, as a sign that the irritability and contractility were intact.

The hearts had, therefore, to be perfused a long time before they were ready for use. During my experiments, which were done during the months of Sept. 1922 to June 1923, it generally took 1 to 2 hours or even longer.

Control experiments were done with rubidium in order to compare the necessary quantities of this element with respect to potassium with the quantities found formerly. I found that the doses of rubidium were still, as they had formerly been roughly estimated, 1½ times larger than of potassium.

§ 4.

Caesium (atomic weight 132.81, atomic number 55) is found in many places but in very small quantities. The only important mineral is pollox or pollucite (Elba) with 37% Cs_2O. Further in lepidolite of Hebron (Maine, U.S.A.) 0.4% Cs_2O; in petalite, karnallite, (Strassfurt) in Zumwalder mica, in the original salts of Durkheim, Nauheim, Bourbonne les Bains, Kreutznach, Vichy, Aussee, Halle, Ems, Ebensee, Kissingen, Homburg, Baden-Baden, Wilbach, Wiesbaden, Monte-latino (Toscane), Frankhausen, in sea-water, sea-weed, tobacco, tea, in many feldspathes and micas.

Chemically it behaves as potassium, but more intensely; between the two stands rubidium. I examined preparations of DE HAEN, MERK, KAHLBAUM, POULENC and SCHUCHARDT, first examining them in the state in which they came from the manufacturers, and subsequently after they had been purified, under Prof. RINGER'S direction, according to his threefold method, measuring the activity

before and after the purification with the ionisation chamber and quadrant-electrometer.

The results obtained proved that caesium could easily replace potassium, although larger quantities were needed, the contractions being just the same.

Fig. 3.

Curve III should be read from left to right; approximately one half of the real size. Impossible to indicate a point where the maximum - dose is surpassed. Highest practicable dose taken at 5800 mgr. CsCl. p. L.

The determination of the maximum doses, the dose at which the heart stood still through an excess of active substance, caused some difficulties. It was very difficult to find the exact maximum dose, even with potassium. Often a gradually increasing negative inotropy arose at certain high doses of this element, causing the contraction to become almost invisibly small (fig. 3). A maximum point could therefore not be shown, with caesium this was in each case impossible. If the contractions became too small I ended the experiment and noted the dose as highest practicable dose; from a comparison of the values found a certain impression may be obtained.

The result of the different readings for each preparation is as follows:

Minimum doses

caesium chloride of DE HAEN
8.7 x KCl dose
„ „ „ v. MERCK
5.3 x KCl „
„ „ „ v. KAHLBAUM
4.9 x KCl „
„ „ „ v. POULENC
4.1 x KCl „

The doses do not entirely correspond to the values found by physical examination; this may be explained by the slight penetrating power of caesium, and by the very slight differences in activity which could scarcely be accurately observed.

everything in mgr. p. Liter RINGER'S fluid.	Minima		Optima	Highest practicable CsC1 dosis	Activity measured
	KLC	CsC1	CsC1		
I 4 Nov.	50	1280	1400	1720	
II 7 Nov.	200	1380	2100	2100	
III 9 Nov.	280	1180	1420	1480	1/6 v.K.
IV 18 Nov.	35	1080	1700	1700	
V 5 Jan.	140	1150	—	1950	
VI 9 Jan.	260	1300	2350	2450	1/10 v.K.
VII 11 Jan.	325	1400	1950	2450	
VIII 11 Jan.	250	1200	2100	2200	
IX 20 Febr.	150	950	1100	1680	1/37 v.K.
X 24 Febr.	225	900	1400	2050	
XI 7 Febr.	320	1100	1400	2050	
XII 9 Febr.	225	1350	1600	2000	1/37 v.K.
XIII 27 April	350	1250	1500	2150	
average ±	216	1194	1500	1998	

The average of all the readings taken shows the following: the minimum dose of the commercial caesiumchloride is 5½ times larger than the minimal KC1 dose.

The optimum dose lies roughly between the minimum and highest practicable dose, generally somewhat nearer the minimum.

The highest practicable dose is not even double the minimum CsC1. dose, and slightly more than 9 times the KC1 minimum dose.

§ 5.

The preparations were trebly purified in the following manner (according to Prof. RINGER'S method):

1) Caesium salt is dissolved in destilled water. A small quantity of sulphate of copper is added, after which sulphuretted hydrogen is passed through the fluid for half an hour.

The precipitate of copper sulphide which arises is filtered off after 24 hours, and the filtrate deprived of remaining sulphuretted hydrogen by boiling.

2) By adding a few drops of chloride of iron and subsequently a slight excess of liquid ammonia a precipitate of iron hydroxyde is formed. This precipitate is also carefully removed by filtering after a few hours, the whole of this second procedure being repeated three times.

3) A third precipitate is formed by adding $BaCl_2$. Enough sulphate is still present in the solution from the first treatment. After having

heated the fluid to boiling-point a small quantity of bariumchloride is added; the next day the precipitate is removed by filtering; the filtrate is subjected to the same treatment twice over, the last time care being taken to remove every trace of barium by adding a small quantity of sulphuric acid; the caesiumcloride still contained a slight quantity of caesium sulphate, therefore. After evaporating the solution and drying the salt the caesium is ready for use.

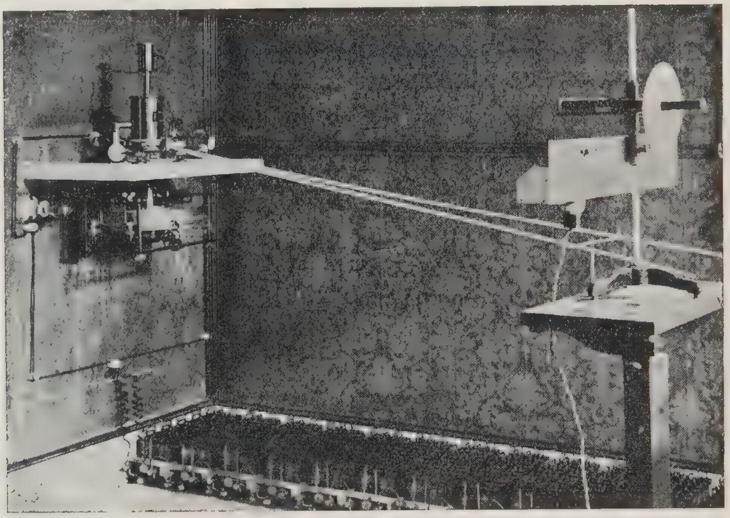


Fig. 4.

Ionization — chamber and the quadrant — electrometer in the Physiological — Chemical Laboratory. At the right the telescope and the division of the scale. At the left the flat ionization — chamber closed with screws, above which the quadrant — electrometer is fixed. On the floor the battery. — The connecting and the disconting of the earth conduction of the quadrant-pairs takes place from the seat of the observer by means of 2 wooden handles.

Activity	befere washing out	after washing out
CsCl of E. de Haen	1/6 of the activity of potassium	1/37 of the activity of potassium
CsCl of Merck	1/10 „ „ „ „ „	. . . . . inactive
CsCl of Kalhbaum	1/37 „ „ „ „ „	1/80 of the activity „ „
CsCl of Poulenc fr.	1/37 „ „ „ „ „	1/77 „ „ „ „ „

The activity of the preparation was measured immediately before and after the purifying treatment by Prof. RINGER, using the method

of air-ionization in a low ionization chamber because of the very soft caesium rays. A full description of the method is given in the thesis of STEYNS (on the influence of calcium on the heart-power), also published in this volume. The purification was succesful in every case, the activity which was present before the process having been almost completely reduced to nought afterwards.

The experiments done with these purified preparations were carried out in the same manner as the foregoing ones. The purified caesium appeared to be capable of replacing potassium; the dosage must, however, be taken much larger than in the case of the impure preparation. [1]

	Minima		Optima	Highest practicable	Activity
	KCl	CsCl	CsCl	CsCl dose	measured
I 20 Dec.	180	1720	2920	3000	
II 20 Dec.	130	2200	—	—	
III 21 Dec.	—	1700	2300	3650	
IV 22 Dec.	280	1000	—	4000	1/37 v. K.
V 27 Dec.	175	2240	—	—	
VI 30 Dec.	175	1740	4600	5400	
VII 14 Mei	65	725	1550	3000	
VIII 16 Mei	100	3900	4700	5800	0 v. K.
IX 18 Mei	140	1300	1400	4700	
X 8 Mei	150	1450	2600	2950	
XI 7 Mei	300	1650	1800	2850	1/80 v. K.
XII 11 Mei	140	1150	2600	4400	
XIII 25 Mei	75	1600	3000	3700	
XIV 28 Mei	125	1300	3500	4300	1/77 v. K.
XV 28 Mei	150	1500	2250	6000	
average ±	156	1678	2760	4134	

§ 6.

The chief biological fact to be noticed is that a much larger dose of CsCl is necessary than of patassiumchloride.

[1] A great source of mistakes can lie in the contamination of the salts used for the Ringer solution, as I learned to my cost during the first experiments. The bicarbonate of sodium „purissima pro analyse", appearing to contain a considerable quantity of potassium. All commercial preparations should, therefore be controlled by the reagent of de Koninck (improved by de Bousser) as even NaCl sometimes contains potassium. A considerable difference was visible in the results obtained, which will be discussed in the following chapter.

	Minimum KCl dose	with KCl dose equi. molecul. to the quantity	Minimum CsCl dose
I	50 mgr. p. L.	± 113 mgr. p. L.	1280 mgr. p. L.
II	200 "	" 450 "	1380 "
III	280 "	" 632 "	1180 "
IV	35 "	" 79 "	1080 "
V	140 "	" 318 "	1150 "
VI	260 "	" 586 "	1300 "
VII	325 "	" 732 "	1400 "
VIII	250 "	" 563 "	1200 "
IX	150 "	" 336 "	950 "
X	225 "	" 504 "	900 "
XI	320 "	" 719 "	1100 "
XII	225 "	" 504 "	1350 "
XIII	250 "	" 788 "	1250 "
average	216 mgr. p. L.	487 mgr. p. L.	1194 mgr. p. L.

If this influence on the heart must chiefly be attributed to chemical properties, as Sidney Ringer supposed, one would expect equimolecular quantities of the substituting substances, which would mean that the CsCl dose was 2.25 times larger than the KCl dose, the equimolecular quantities, however, were always far surpassed, being generally about 5½ times as large as the KCl dose, while in the purified preparations the difference becomes even still greater. If one compares the preparations from the different manufacturers before and after purifying the result is that, on an average, one needs for the minimum, optimum and highest practicable dose respectively 2, 2½, and 3 times more CsCl after than before the purification, while this quantity itself is 24 times the equimolecular dose.

Average	unpurified CsCl	purified CsCl
Minimum dose ±	5.5 × Min. KCl dose	10.7 × Min. KCl dose
Optimum dose ±	7.1 × " " "	17.7 × " " "
Highest practicalde dose ±	9.2 × " " "	26.5 × " " "

If we follow the conception of Prof. ZWAARDEMAKER and empirically arrive at a corpuscular equivalency of substituting elements, one can insert CsCl in the graphical representation, which must, of course, be logarithmical to be able to unite such very different numbers in one graph. If one gives caesium its place in this graph

it appears that the average number of particles emitted by caesium is 55 per second. A photographical effect could then, according to this calculation, only be obtained after 9 years.

§ 7.

A few experiments were done with the strongly buffered fluid of BRINKMAN (see Zeitschr. für Biol. 74, 1921 p. 1) to see what the effect of the substitution of potassium by caesium was, under these conditions and whether a caesium-calcium balance existed, as in the case of potassium, rubidium, uranium and thorium with calcium. The result was that such a balance certainly did exist.

§ 8.

It is a well-known fact that in summer the hearts need less potassium than in winter, this influence being more expressed for the alpha- than for the beta-radiators. ZWAARDEMAKER supposed that certain hormones, sensitizing substances are at work here; nothing has been actually found, however though certain substances are known which have a decided sensitizing influence on the heart for radioactive substances, the most important of these being fluorescein, eosin, adrenalin and cholin. Some of these influence the alpha-radiators, the heavy metals, (fluorescein) others the beta-radiators (cholin and eosin). None of them possess any apparent influence on the automatism. ZWAARDEMAKER believes this sensitization consists in intensifying the adsorption of the radioactive ions, which can only act when they have been fastened to the surface of the cells. From former experiments of de LIND VAN WIJNGAARDEN'S in this laboratory the conclusion was drawn that caesium belonged to potassium and rubidium in this respect. I came to a contrary conclusion, however, after my experiments, viz. that a heart is far more intensely sensitized by fluorescein for caesium than for potassium (or rubidium), so that caesium must belong to the heavy radioactive metals. Cholin does not sensitize the heart for CsCl at all, so that in this respect also this element is on the side of the heavy metals.

§ 9.

In order to discover the nature of the rays of the commercial Cs preparation we resorted to the method of finding a paradox. Such experiments had formerly been done by ZWAARDEMAKER and de LIND VAN WIJNGAARDEN, using Cs. and uranium. They however worked with far lower doses than I did, the difference most probably

lying in the fact that their preparations (war-products) were more contaminated than mine. It was, therefore, necessary to repeat these experiments.

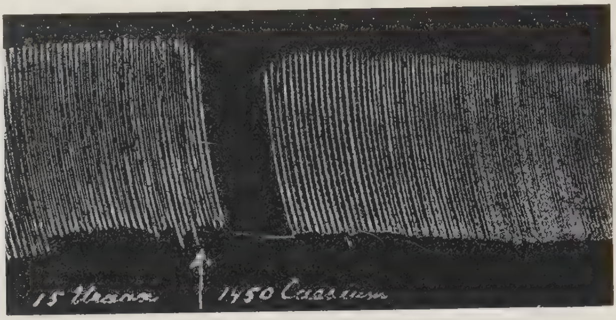


Fig. 5.

Curve real size, should be read from left to right. A heart beating on 15 mgr. of Uranylnitrate p. L. comes to a standstill when changed to a fluid containing 1450 mgr. of CsCl p. L. after which it continues to beat spontoneously under the influence of the caesium.

A heart was perfused with potassium-free RINGER solution until it stood still, then uranylnitrate was added. After it had been beating regularly on this for 10 minutes the fluid was changed to Cs, (which could be changed to any concentration needed) and vise versa. A paradox was obtained several times, which proves that Cs is a beta radiator, 15 mgr. being more or less equivalent to 1450 mgr. of CsCl. The paradox in the direction Cs → Ur is far more difficult to obtain than vise versa.

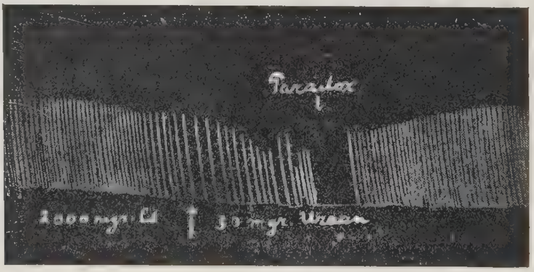


Fig. 6.

Curve, of the real size, should be read from left to right. Paradox at the transition from Ringer fluid containing 2000 mgr. of CsCl. to Ringer fluid with 30 mgr. of Uranylnitrate. Irregularities immediately after the transition, a short time alterwards the paradoxal standstill, after which once more the regular uranium pulsation appears.

Fig. 7.

The same heart as in fig. 5. Curve should be read fron left to right. The uranium dose is lowered to 10 mgr. p. L. When changing to 1450 mgr. of CsCl. the paradox appears again, but the latter does not last so long.

If the heart is perfused alternately with Cs. and U. a condition soon arises, in consequence of a negative inotropy, in which the heart cannot stand more Cs.

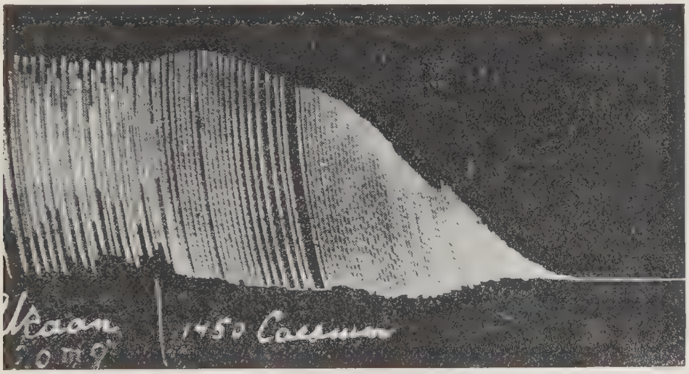


Fig. 8.

The same heart as in fig. 5 and 7. Curve should be read from left to right. The uranium dose is raised to 20 mgr. of Uranylnitrate per L. The paradox now also appears at the transition to 1450 CsCl; but its duration is also shorter than in fig. 5. After this the Caesium-beating follows; in which, however, a lytical standstill appears, arising from the repeated change from Uranyl- to Caesiumperfusion.

It comes to a lytical standstill, which appears all the sooner if the alternate Cs. U. perfusion has been carried on too long. This standstill disappears during potassium-free perfusion, also on using uranium-RINGER, not so quickly, however, as with potassium-free RINGER. This somewhat resembles Paradoxon III, in this case only Cs. however, as the heart again begins to beat with U.

20	mgr.	p.	L.	of	Uranylnitrate	—	2000	mgr.	p.	L.	of	CsCl
30	„	-	„	„	„	—	2000	„	-	„	„	CsCl
25	„	„	„	„	„	—	1700	„	„	„	„	CsCl
15	„	„	„	„	„	—	1450	„	„	„	„	CsCl
15	„	„	„	„	„	—	1350	„	„	„	„	CsCl
20	„	„	„	„	„	—	1700	„	„	„	„	CsCl

From these experiments follows that in some respects the commercial Cs. is on the potassium-rubidium side, from others that it belongs to the heavy radioactive metals. The "contaminating substance" might perhaps be the missing element with atomic number 87, the *metacaesium* which should take its place in the periodic system between the heavy radioactive elements, and in the column Li, Na, K, Rb, Cs. This would clear up the contradiction, but the supposition is a daring one, too tempting to be discarded, however.

§ 10. CONCLUSIONS.

1. Commercial preparations of caesium can be readily used as a substitute for potassium in perfusion fluids.

2. The necessary dose is at least 2½ times as large as the dose which is equimolecular with the suitable potassium dose.

3. By subjecting the commercial preparation of caesium chloride to certain purifying methods, its "physically measureable" radioactivity is greatly diminished, and at the same time its biological action is considerably weakened.

4. In its biological action the commercial preparation behaves as the beta-radiators potassium and rubidium.

5. With respect to the substances which sensitize the heart the commercial preparation of CsCl. stands on the side of the heavy radioactive elements.

6. 4 and 5 contradict one another, superficially seen; this contradiction would, however immediately be explained, if the daring supposition could be made, that the substance which lends its radioactivity to the commercial preparation would be the unknown element with the order number 87.

ALPHA-RAYS AND HEART-ACTION

BY

JOH. N. VOORSTAD.

(abstract of his Thesis. Utrecht Oct. 16th 1923).

§ 1.

The separate action of the various elements in RINGER'S solution is still a point of dispute. Potassium, for instance, is generally looked upon as a necessary constituent of the living cell, but, whereas some consider the action to be entirely a chemical one, ZWAARDEMAKER believes it, in many instances, to be chiefly radioactive. S. RINGER had already found long before that he could use rubidium chloride as a substitute for potassium chloride, and also caesium chloride, though in a lesser degree, but he did not realize why this could be done. Gradually, after ZWAARDEMAKER's insight into the question, it became clear that any radioactive element could, of course, be substituted if only the quantities were radio-equivalent, and, curiously enough, it was of no consequence whether alpha- or beta-radiators were used. If, however, an alpha-radiator was substituted for a beta-radiator, or vice versa a brief standstill was often observed shortly after the substitution. This phenomenon, at first called Paradoxon as it was not comprehended proved later to be a temporary state of equilibrium between equivalent quantities of alpha- and beta-rays, which counteracted each other's action by their positive respectively negative charge. This compensation lasted until one of the rays gained the upperhand. The radiation took place from within (perfusing fluid) and from without. The former was effected by means of potassium and rubidium chloride (caesium may also be used if the commercial preparation has not been purified beforehand,) with uranylnitrate, thoriumnitrate and radium bromide and emanation: the latter by means of mesothorium and radiumbromide, with or without mica screen, which served to absorb the alpha-rays.

It proved of interest to determine the influence of the alpha-rays of polonium, applied externally. G. GRYNS had already done various

experiments on this subject. The polonium with which he experimented had been applied galvano-plastically, in a thin layer, to a small copper plate of 4 cM^2. During the experiments this plate was bent round the heart in the shape of a horseshoe so that the heart was surrounded on three sides by the rays at a distance of $\pm$ 3 m.M. The results of his experiments were the following: Thirty-three frog-hearts were examined after first having been washed out in potassium-free Ringer, and then, after they had come to a standstill, being left to themselves for 15 min. The perfusion with RINGER solution without potassium was still continued. Of these 33 hearts 19 gave a negative result, 10 recommenced to beat but it is not certain whether this was due to a coincidence, only 4 were indisputably positive in their response to radiation. He came to the conclusion that positive results could only be expected when the hearts were very sensitive and their centra for automatism lay near the periphery.

§ 2.

We will mention a few characteristics and qualities of Polonium and Radium emanation, as these are the two elements I examined. The rate at which the disintegration of radio-active elements takes place is constant for each element and cannot be influenced from without; it is independant of temperature, pressure, and the chemical combination of the element. It is well known that the alpha- beta- and gamma-rays which the elements emit on exploding cannot be bent, reflected or polarized. If they pass through gasses they render them conductive to electricity. These three rays differ in their power of penetration and in their behaviour in a magnetic field. The alpha-rays are entirely arrested by an aluminium plate of $\frac{1}{10}$ mM. thickness; a layer of air of 4 cM. totally absorbs them. The beta-rays have a penetration power which is 100 times stronger. The most powerful, the so-called hard beta-rays, are only absorbed by 1 cM. of lead. The gamma-rays can penetrate through 1 cM. of lead, though approximately one half of the rays is absorbed. In general one can say that the thickness of the adsorbing layer is inversely proportional to the density of the substance. It is also well known that hitherto 3 series of substances are known which have been formed out of a primary element through this process of disintegration. From these series we see that Radium is the 5 th disintegration product of Uranium 1, and that this, in its turn,

emits alpha-, beta- and gamma- rays and passes into a gaseous-state, the radium emanation to which Ramsay gave the name of Niton. From this niton by successive transformation, A. B. C. D. and E, the 7th product Radium F. is formed, which is also called Polonium. Polonium emits only alpha-rays; 1 mgr. of polonium emitting as many alpha-particles as 5 mgr. of radium. The time in which a radioactive preparation is reduced to half its power is for polonium 136 days.

A few important facts concerning radium-emanation may also be mentioned here. Emanation may be considered as any other gas which follows Boyle's law. It only escapes in very slight quantities from the solid radium combinations. The quantity emitted by one certain salt depends on the momentary molecular condition of the salt, on its mode of preparation, precipitating and drying, on the temperature and moisture of the air. Solutions of one or other radium salt produce the total quantity of emanation very quickly. Emanation is soluble in water and in other fluids; more soluble in distilled water than in salt solutions. My own experiments were done in the spring and summer of 1923, and were a continuation of the work begun by GRYNS, viz: what influence was to be seen by external radiation of the heart with Polonium and emanation after having been brought to a standstill by perfusion with potassium-free RINGER, while the perfusion with this fluid was continued. I was again able to see the great difference between summer and winter dosages, as S. DE BOER had already pointed out some time ago. The experiments were done at room temperature, and when the summer grew too warm, in a thermostate at 15^0 C. The mode of experimenting was the following. The animals (frogs) were killed by destroying the brains and spinalcord; after which the heart was laid bare. The pericard was removed and the sinus venosus opened, the septum atriorum laid bare and a Kronecker cannula (à double courant) inserted in the opening and a ligature so laid that the sulcus atrioventricularis was just caught in the loop; in this manner one only experiments with the ventricle. Care was taken that no air entered into the ventricle or the cannula, which might disturb the action of the heart during perfusion. The perfusing system consisted of a few Mariotte flasks which were each connected, by means of a glass tube with stop-cock, with a general outlet tube lying approximately 8 c.M. lower than the level of the solution in the air-tube of the Mariotte flask. To the general outlet tube the Kronecker cannula was fixed.

A serre-fine was fixed to the heart-point which was connected by a thin thread with a lever, which recorded the contractions on a drum. The polonium used for the experiments was obtained from the Chinine factory Buchler and Co: at Braunschweig and consisted of a quantity of the element precipitated by some galvanoplastic method on to a small copper plate with a surface of 4 cM^2., on the 8 th of April 1923.

This plate was bent round in a horseshoe form with a radius large enough to remain at a distance of 3 mM. from a heart placed in the centre. This plate was fixed to a stand in such a manner that it could easily be moved in all directions by a threefold screw-system. The preparation which was three weeks old when I began my experiments was first tested as to its activity. This was done by means of zinc sulphide spread in a thin layer on one side of a glass slide. If such a slide is placed within reach of the alpha-rays of a polonium preparation, under the microscope in a dark room intermittent flickering light is seen (so-called scintillation), if sufficient activity is present. The Braunschweig preparation I used showed a strong scintillation. With internal radiation I made use of radium-emanation solution, obtained from a small emanatorium, made by the Allg. Radiogen: Act: Gesellschaft in Berlin. The emanatorium was filled with water distilled in glass and left to itself for at least 24 hours before drawing the emanation water. To avoid escape of emanation gas from the Mariotte flasks I made use of a contrivance invented by STEYNS and described in his thesis. It consists of a thin rubber condome tied round the air-inlet tube of the Mariotte flask (in this case not glass but rubber with a few side-holes cut into it). If the bottle is now well corked up and filled with the fluid in a lying position the thin rubber bag folds up entirely. When the fluid is allowed to escape by the outlet tube the thin bag can allow air to enter without this coming in contact with the fluid, and without allowing the emanation to escape.

In order to supply the fluid with oxygen, which was now impossible in the ordinary manner, the RINGER solution was saturated with this gas before adding the emanation. During perfusion I also made use of small quantities of Calcium, only working with 50 mgr. per Litre as a maximum.

§ 3.

To determine the influence of external alpha-radiation on the automatism of the heart two methods were employed:

a) Using a heart which has been brought to a standstill by perfusion with potassium- free RINGER.

b) Using a heart which was beating regularly with potassium- or rubidium-RINGER solution.

Sub. a. Let us consider the case mentioned in *a)*. It must be remembered that it is often extremely difficult to obtain a heart under just such conditions. There are some hearts which, after having pulsated for hours with potassium-free RINGER solution, suddenly, or sometimes slowly, come to a standstill, while the heart is still in excellent condition and it is only lack of electrolyte, or, as ZWAARDEMAKER says, the lack of beta-radiaton, which brings the heart to a standstill. But there are also hearts which continue to beat with potassium-free RINGER until they are entirely exhausted and die.

At the beginning of an experiment we have no possible means of recognizing these two sorts of hearts.

There are also hearts which come to a standstill with potassium-free RINGER and suddenly, after a few minutes, begin to pulsate again, without evident cause. Such hearts would appear to give positive results with polonium radiation, results which, however, would also have been obtained without polonium. It was, therefore, necessary to take the time in which the heart stood still long enough that the heart could not be revived spontaneously.

The hearts were numbered according to the order of the experiment. The time mentioned in the reproductions is calculated per cM. of the film according to a scale always noted under the curves.

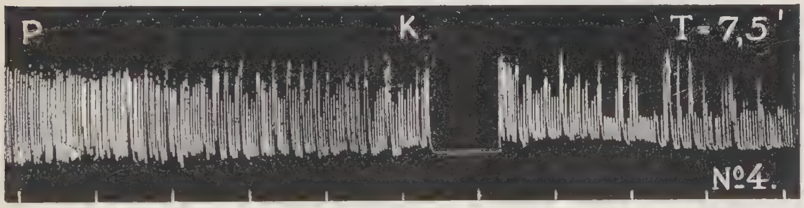


Fig. 1.

Reproduction of No. 4.

A quarter of an hour's standstill. Pulsation on Polonium. Paradox with potassium, 100 mgr. p. L., while polonium-radiation was continued.

I examined 4 hearts which had stood still for 15 minutes after a lengthy perfusion with potassium-free RINGER. Three of these cases, numbers 47 and 13, displayed regular pulsations, with a few

variations in duration and moment of appearance after polonium radiation. In No. 4 and 13 a paradox appeared after addition of 100 mgr. of potassium per L.

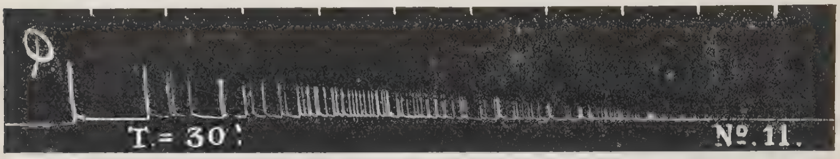


Fig. 2.
Reprod. of No. 11.
Half an hour's standstill. Polonium pulsation.

Three hearts were examined which had been standing still during 30 min. on potassium-free RINGER, Nos. 11, 16, and 25. In Nos. 11 and 16 fairly regular pulsations appeared, which only died out after many hours.

Fig. 3.
Reprod: of No. 25.
Half an hour's standstill. Revival after addition of Polonium.
Renewed standstill when polonium was removed.

In No. 25 Polonium was removed after the heart had been beating irregularly for 2 hours on this element; a standstill appeared almost simultaneously.

The three hearts which were subjected to polonium-radiation after the pulsations had ceased for ¾ of an hour, also gave positive results. They are Nos. 8, 10 and 18.

In No. 8 pulsations recommenced 20 minutes after addition of polonium which lasted approximately 10 minutes. After this a standstill appeared which lasted 2½ hours and subsequently a new period of pulsations during 3 hours; which ended when the polonium was removed.

In No. 10 regular pulsations only appeared 2 hours after addition of the polonium preparation; these lasted for 6 hours.

In No. 18 pulsations commenced 30 minutes after addition of polonium. The contractions gradually became smaller and died out entirely after approximately 4 hours, although the polonium had not been removed.

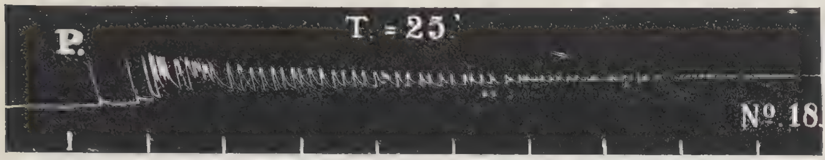


Fig. 4.
Reprod. No. 18.
Standstill during $^{3}/_{4}$ of an hour. Polonium pulsations 30 minutes after addition of Polonium. Gradual cessation after $\pm$ 4 hours.

The three hearts which were subjected to polonium radiation after one hour 's standstill all gave positive results. Nos. 19 and 22 pulsated irregularly for full 7 hours after 1½ hour 's radiation.

No. 35 began to beat after 30 minutes, but suddenly ceased 1½ hours later when polonium was removed.

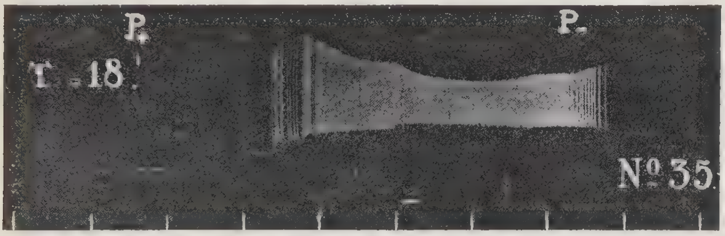


Fig. 5.
Reprod. No. 35.
Standstill of 1 hour. Polonium pulsation during $1^{1}/_{2}$ hours.
Sudden cessation of beating when polonium was removed.

I examined three hearts after a standstill of 2 hours. Nos. 5 and 23 gave rather poor results. No. 39 was slightly positive. The heart began to beat after polonium radiation but the pulsations were irregular and short, as the following reproduction shows.

I also examined a few hearts after 3 hours' standstill. These, without exception, remained motionless even after a very lengthy polonium radiation, although externally the heart appeared to be in good condition.

In general the results obtained differ a good deal. We must not of course, expect a direct action after addition or removal of polonium, for the penetrating power of the alpha-rays is small. One

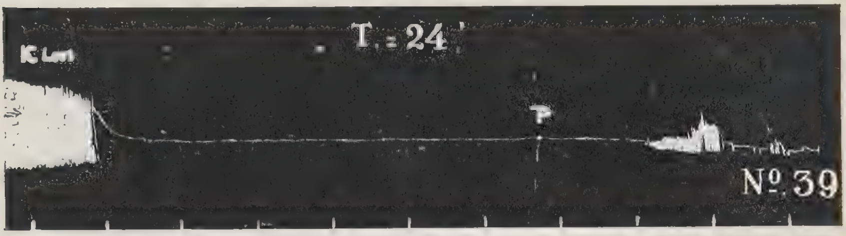


Fig. 6.
Reprod. No. 39.
2 hours standstill. Irregular polonium pulsation, of short duration.

also gets the impression that some hearts need a great deal of polonium or that they have their centra far away from the surface, as they begin to beat 2 hours, or even longer, after addition of polonium. On the other hand a few hearts began to pulsate after approximately 10 minutes which might mean that they needed a small quantity of polonium or that their automatism centra were nearer to the perifery.

The reason why several hearts acted so differently while the circumstances were further the same may possibly lie in the difference between summer and winter frogs, or rather the transition-stage between the two. The total result of these experiments, however, is that external application of polonium will revive the automatism of a heart sooner or later, in various degrees, whereas it would have continued in its standstill indefinitely if it had been left to itself. *In control experiments* I never saw hearts which began to beat spontaneously after a standstill of half an hour or more.

The general result of all the experiments is, therefore, that in a heart brought to a standstill by removal of potassium radiation with polonium produced the following:

When commencing the radiation ¼ of an hour after complete standstill revival in 3 of the 4 cases.

When commencing the radiation, ½ an hour after complete standstill revival in all 3 cases.

When commencing the radiation, ¾ of an hour after complete standstill revival in all 3 cases.

When commencing the radiation 1 hour after complete standstill

revival in all 3 cases.

When commencing the radiation 2. hours after complete standstill uncertain results.

When commencing the radiation 3 hours after complete standstill no revival.

In other words in 13 cases from my systematic series (experimented upon with the first, not entirely fresh polonium preparation bent round the hearts) we find 12 positive results and one negative one.

Sub. b. Using a heart which was pulsating regularly with potassium or rubidium we had a far better chance of obtaining regular pulsations. The object in view was to obtain paradoxes between the internal beta-radiator and the external alpha-radiator. This proved a far easier mode of experimenting.

K + Pol.

A heart has been pulsating, for instance, during 15 min. with a suitable low potassium-Ringer solution, 20 mgr. per L.

Potassium radiation is applied from without, the heart stops beating almost immediately; evidently an equilibrium between alpha- and beta-radiators has taken place. If the potassium preparation is removed the automatism appears at once with the old frequency. A little later on the same experiment with a slight variation is repeated. The polonium is not removed but left near the heart. Gradually the beats reappear again with a different frequency now the alpha-radiation has gained the upper hand.

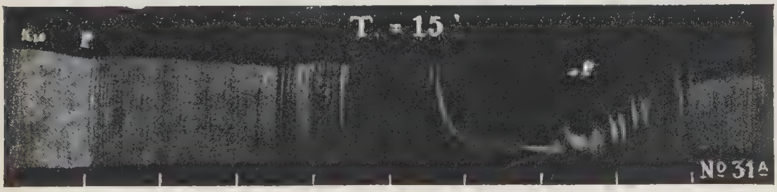


Fig. 7.
Reprod. No. 31a.

Regular pulsation on potassium 20 mgr. p. L.; later on equilibrium between potassium and polonium. Revival after removal of Polonium.

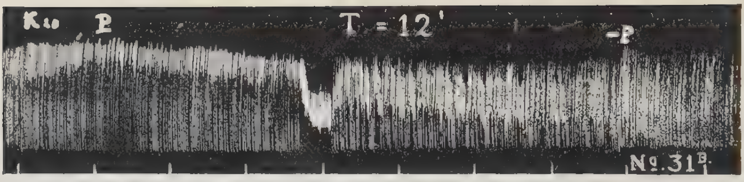


Fig. 8.
Reprod. No. 31b. (Continuation of 31b).

Regular pulsation on potassium 20 mgr. p. L. Decrease in frequency after addition of polonium, ending in polonium pulsation.

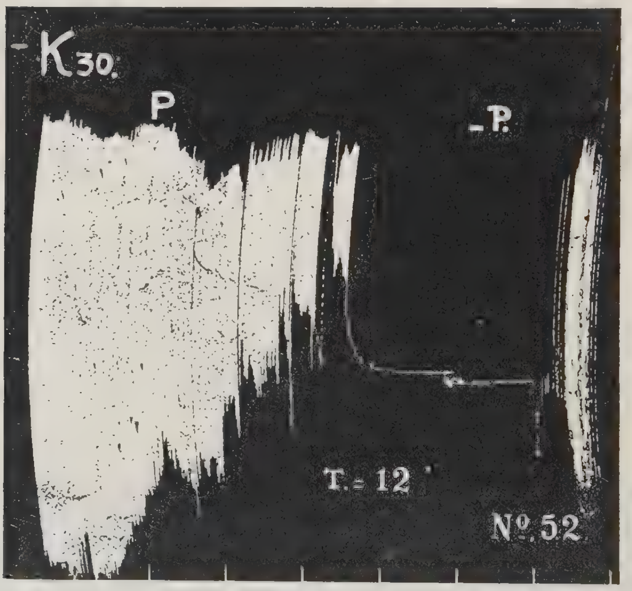
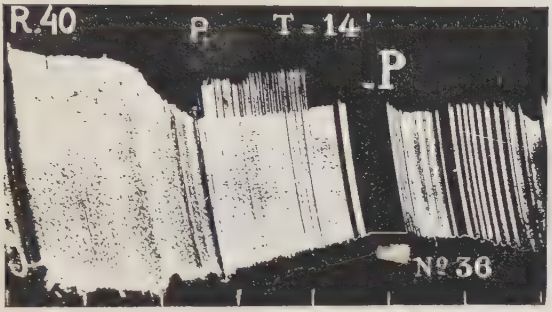


Fig. 9.
Reprod. No. 52.

Equilibrium between Polonium and Potassium 30 mgr. p. L.
Revival 10 minutes after removal of Polonium with Potassium.

Rubidium + Polonium. I found the same relationship between Rubidium (40 mgr. p. L.) and Polonium whereas with Uranium and Polonium just the opposite was seen. The hearts pulsated regularly with ½ mgr. of Uranium per L. (summer dose). On adding the

Polonium preparation the contractions became considerably higher; which must, in my opinion, be due to an addition of the external and internal alpha rays.



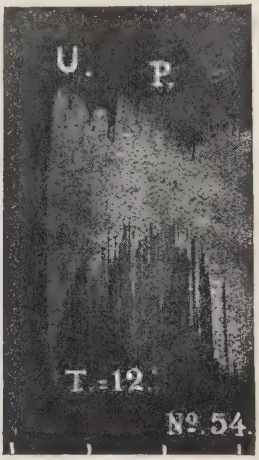


Fig. 10.
Reprod. No. 36.

Fig. 11.
Reprod. No. 54

Fig. 10. Regular pulsation with rubidium 40 mgr. p. L., later on equilibrium between Rubidium and Polonium.

Fig. 11. Pulsation with Uranium-Ringer 2 mgr. p. L. which becomes far more regular after addition of Polonium.

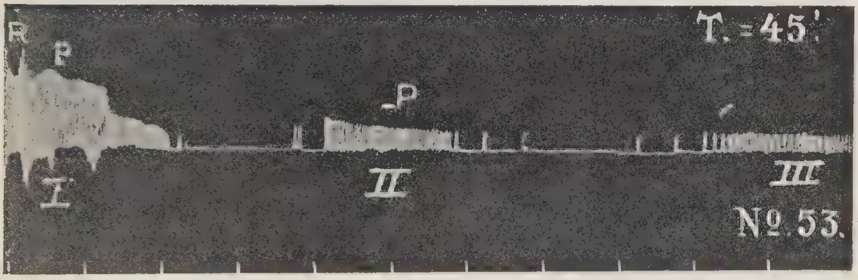


Fig. 12.
Reprod. No. 53. (drawn).

At I and III beta-pulsation wlth Rubidium 40 mgr. p. L.
At II alpha-pulsation with Polonium.
Equilibria between the two.

Cs and Pol. (350 mgr. of CsCl per L:) The result was the same as with the rubidium and potassium hearts, but as E. SMITS

shewed in his thesis, published almost at the same time, this action is due to radio-active impurities clinging to the commercial caesium preparation.

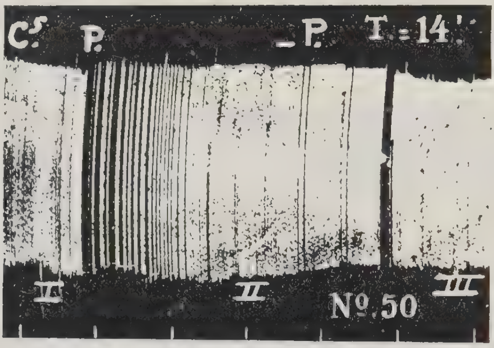


Fig. 13.
Reprod. No. 50.

I regular Cs pulsation (350 mgr. p. L.)
II regular Polonium pulsation.
III regular Cs pulsation.
Between I and II an equilibrium.
Between II and III an equilibrium.

These experiments were all repeated with a new polonium preparation which was also made at Braunschweig, as the old one had become consiberably weaker; the results were approximately the same.

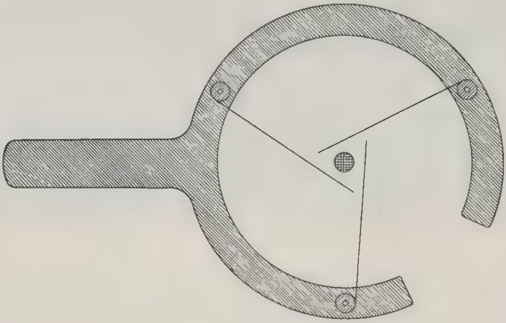


Fig. 14.

New polonium preparation consisting of 3 copper plates 1 cM broad and 4 cM long; on each plate polonium had been precipitated. The plates were adjustable in a copper ring of 3 cM radius, so that the object in the centre could be radiated with polonium at different distances.

§ 4.

Although my results are certainly more positive than those obtained by GRYNS, (a fact which I ascribe to my polonium preparation, which was fresher than the one my predecessor had used) I am not satisfied by the results.

The differences in the time needed to make a heart pulsate with polonium, the variable after-action of this element, the small penetrating-power of the rays gave too varied results. I therefore ended my research with a series of hearts perfused with emanation solution, to see the effect of the alpha-radiation from within. FEENSTRA had already shown that a heart can be revived (after stillstand by potassium-free RINGER solution) by perfusion with emanation, and STEYNS conducted a long series of such experiments. I also repeated some of these experiments and obtained the same results. Very striking paradoxes were obtained either starting with potassium and substituting Emanation or vice-versa, the latter giving the most evident results.

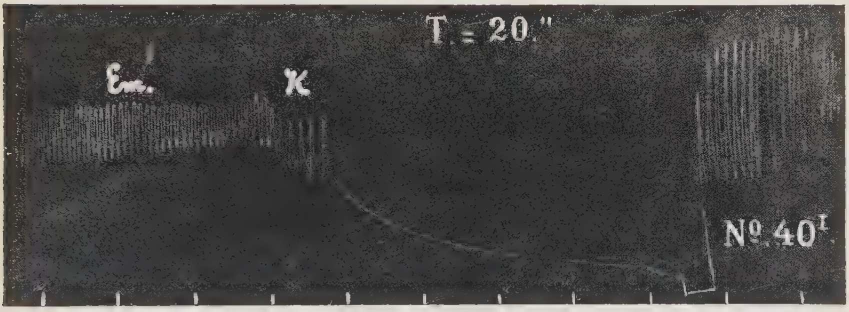


Fig. 15. Reproduction of Curve No. 40I.

Paradox between Eman: $\frac{75}{300}$ [1]) and K. 50 mgr. p. L.

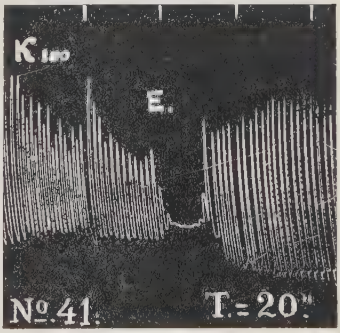


Fig. 16.
Reprod. of curve No. 41.

Paradox K. 50 mgr. p. L. Eman $\frac{75}{300}$

---

[1]) That is to say: 75 cM^3 of distilled water containing emanation, and 300 cM^3 of Ringer solution, together in physiological concentration.

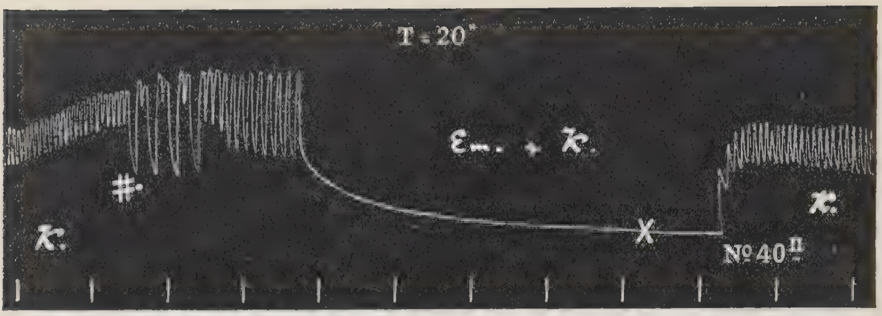


Fig. 17.
Reprod. of curve No. 40II.

Equilibrium between Eman $\frac{75}{300}$ and K 40 mgr. p. L.

At the first signal both cocks are opened. At X the drum was stopped for 2 minutes.

With Rubidium and Emanation I also saw paradoxes, one of which is represented in the following curve, but with Uranium and Emanation, as one might expect, no trace of standstill was visible, although a slight difference in frequency sometimes manifested itself.

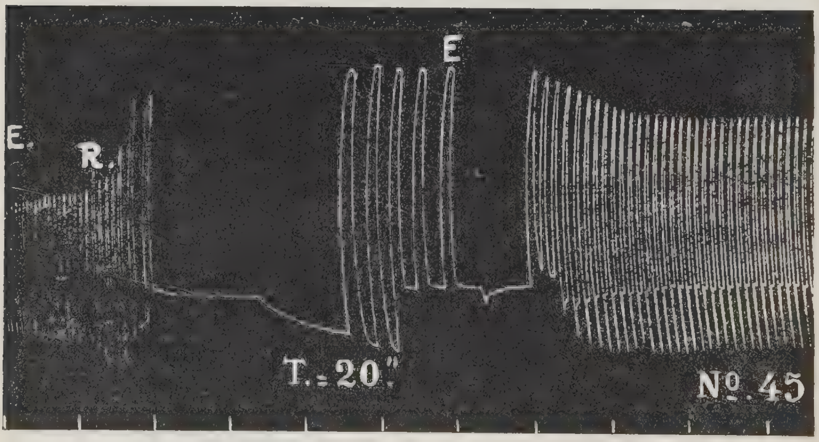


Fig. 18.
Reprod. of curve No. 45.

Distinct paradoxes between Emanation $\frac{75}{300}$ and Rubidium 60 mgr. p. L. and vice-versa.

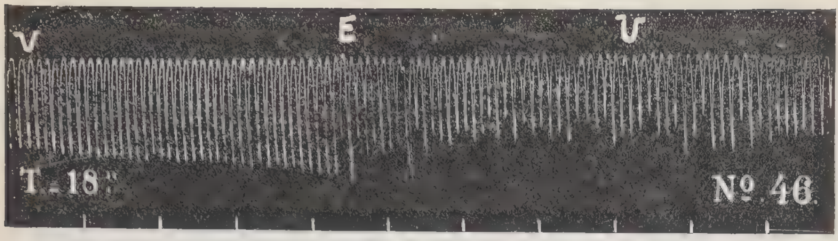


Fig. 19. Reprod. of curve No. 46.

No paradox with Eman. $\frac{75}{300}$ and Uranium Ringer, 4 mgr. p. L.

§ 5.

To complete this research, I examined the penetrating power of polonium through different animal tissues, as RUTHERFORD and others had already examined it by means of a sensitive electroscope and by the scintillation method.

A cork, 2 c.M. thick, with a central opening of 2 c.M. in diameter was used as screen. On the one side the tissue we wished to examine was stretched by means of small pins, and on the top of this, at a short distance, a sensitive WELLINGTON plate was fixed. On the other side of the cork the galvanoplastic polonium preparation was fixed; this construction was placed in the dark room during 5 minutes: and the plate thus exposed to an alpha-radiation at 2 c.M. distance,

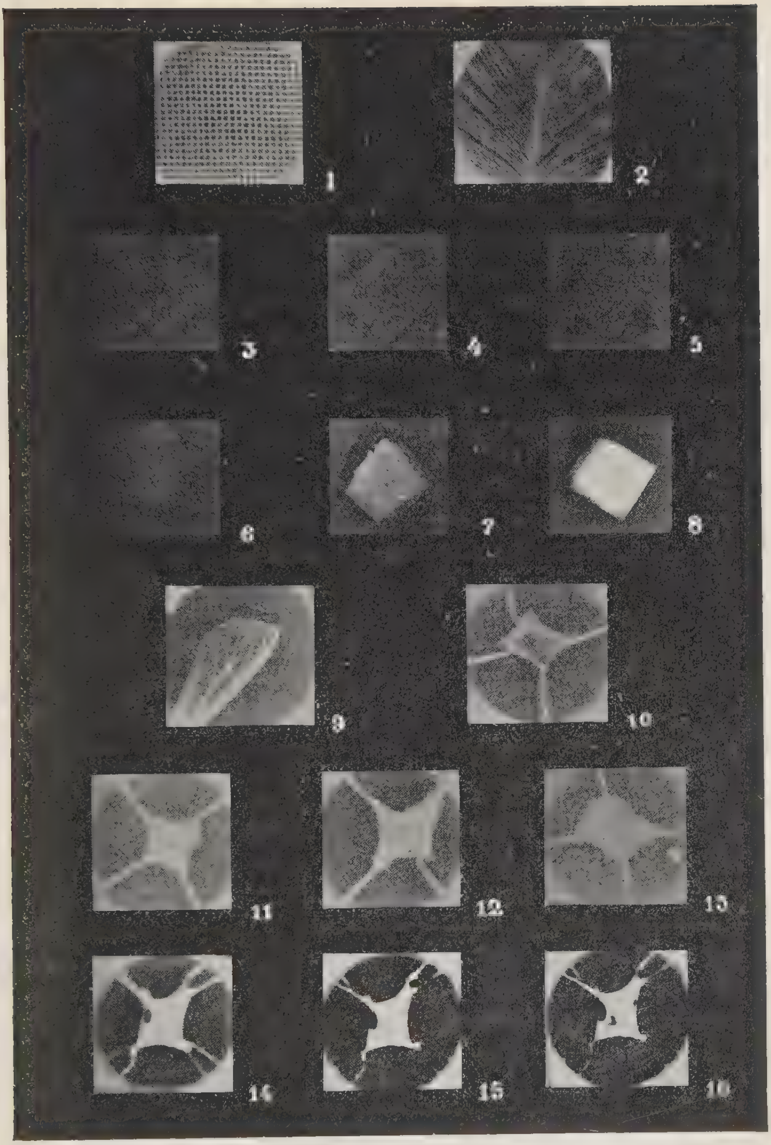
First we determined whether sharply defined contrasts could be obtained and found that this was the case. Then the limit of penetrability was approached with different thickenesses of aluminium: in the given circumstances an aluminium plate of 18 μ just allows the polonium-rays to penetrate. As for the animal tissues a pericardium of a frog allows the rays to pass easily, but a mesenterium may be compared with alluminium of 18 μ and the atrium wall of a frog's heart absorbs all the polonium-rays during 5 min. at 2 cM. distance, and even the cornea, which allows the passage of all light-rays absorbs every single alpha-ray. It is needless to say that, just as with the action of light on a photographic plate the effect is intensified by longer exposure and a smaller distance to the radiating object. The effect of the alpha-rays on the entire tissue surface is, under the given circumstances, only visible after ½ to 1 hour's time, which is entirely in accordance with the long period which was necessary before the polonium had any visible effect on the heart automatism.

Distance is 2 c.M. Time of exposure is 5 minutes.

No. 1.	copper-wire gauze.	
No. 2.	bird's feather.	
No. 3.	aluminium	0,6 M.
No. 4.	„	0,2 „
No. 5.	„	2,4 „
No. 6.	„	4,8 „
No. 7.	„	9.6 „
No. 8.	„	19,2 „
No. 9.	butterfly's wing.	
No. 10.	pericardium parietale of a frog.	
No. 11.	mesenterium of a frog.	
No. 12.	atrium of a frog.	
No. 13.	cornea of a frog.	

Distance is 3 mM.

No. 14.	atrium of a frog's heart	5 min.
No. 15.	„ „ „ „ „	½ an hour.
No. 16.	„ „ „ „ „	1 hour.



Negatives obtained with polonium rays.

Summary.

The following facts were noticed during the experiments with external alpha-radiation.

A heart which has ceased to beat regains its automatism. A standstill again appears when polonium is removed. Paradoxa and equilibria appear with beta-radiators.

Addition takes place with alpha-radiators.

All these results were far more evident and took place more swiftly when the internal radiation was applied, which may easily be understood when we consider the small penetrating power of the alpha-rays and the far larger surface which can be reached by internal radiation, with all its crevices and lacunae. The difference in the time which is necessary before the commencement of automatism after polonium addition and for the reappearance of a standstill after removing the radio-active element may be explained by accepting GRYNS' opinion that all hearts are not equally sensitive or that their automatism centra are situated at different distances from the perifery. This action of alpha-radiators cannot be explained chemically, for such an explanation is in contradiction with the appearance of paradoxa and equilibria between alpha-radiation and potassium.

CONCLUSIONS.

The following conclusions may therefore be drawn:

1. A heart brought to a standstill by removing the potassium begins to beat again when external alpha-radiation is applied, unless the standstill has lasted too long (3 hours).

2. A galvanoplastic precipitate of polonium on copper can serve as alpha-radiator, if it is of recent date.

3. External alpha-radiation combined with internal beta-radiation gives paradoxes and equilibria.

4. Internal alpha-radiation in combination with an internal beta-radiation acts in the same way.

5. External and internal alpha-radiation strenghten eachother's action, unless the maximal dosis is exceeded by this addition.

6. The same is seen when two radiators are applied internally.

7. Perfusion with Ringer containing emanation gives more constant results than external alpha-radiation.

8. The action of the alpha-rays on the automatism of the heart does not depend on the liberation of potassium.

Literature.

S. de Boer. Arch: neerl. de Physiol. Tom II p. 352 1918.

Bragg and Kleeman. Phil. Mag. 8. p. 726, 1904 10 p. 318, 1905.

Campbell and Wood. Proc. Cambr. Phil. Soc. Vol XIV p: 211, p. 340. 1906 Vol. XV, p. II, 1909.

Mad. Curie. Traité de Rad. activité Tome I. p. 201.

Debierne. Compt. Rend. 1910.

Feenstra. Proefschrift Utrecht 1921. Ionenbalanceering.

G. Greene. Relation of blood salts to heart-beat. Americ. Journ. of Phys. Vol. II, p. 82, 1898.

Herschfinkel. Compt. rend. Acad. sc. 1909.

Hofmann. Phys. Zeitsch. p. 337. 1905.

W. Howell. Automaticy a sequence of heart-beat Americ. Journ. of Phys. Vol. II. p. 42, 1898.

W. Howell and E. Cooke. Action of inorganic salts of serum upon the isolated working heart: Journ. of Phys. Vol XIV. p. 198, 1893.

Kolwrat. Le Radium 1907—1909.

Lingle. The action of certain ions on ventricular tissue. Americ. Journ. of Phys. Vol. IV p. 265, 1901.

J. Loeb Amer. Journ. of Phys. Vol. III. p. 3. 327. 1900.

J. Loeb. Uber Physiol Ionenwirkungen etc. in C.

Oppenheimer. Handbuch der Biochemie. Bd. II, p. 104, 1910.

Mac. Owens. Phil. Mag. Oct. 1899.

S. Ringer. Journ. of Physiol. Vol. III. blz. 380. 1880. '82.
Vol. IV. blz. 29 and 222, 1883.
Vol. V. blz. 247. 1884.

Rutherford. Marx' Handbuch der Radiologie Deel 2 p. II, 462, 608, 1913.

E. Rutherford and T. Soddy. Phil. Mag. (6) 5. 76, 1903.

Rutherford. Phil. Mag. Jan. 1900.

Rutherford and Geyer. Le Radium 1909.

Ramsay and Soddy. Proc. Roy. Soc. 1904.

J. P. Sloof: Het ventrikel electrogram van kikvorsch en aal, onder invloed van radio-active atomen Dissert. Utrecht. 1922.

E. Smits. Caesium en Hart. Dissert. Utr. 1923.

Traubenberg. Phys. Zeitsch. p. 130, 1904.

H. Zwaardemaker, B. Benjamins and T. P. Feenstra. Radiumbestraling en hartswerking. Tijdsch. voor Geneesk. 1916. 2e helft No. 22.

H. Zwaardemaker. Uber die Bedeuting der Radioactivität f. d. tierische Leben Ergeb. der Phys. blz. 362. 1921.

H. Zwaardemaker et G. Grijns. Arch. de Phys. tome II p. 500. Sur l'action du Polonium sur le coeur de grenouille immobilisé par la solution de Ringer priveé de potassium.

H. Zwaardemaker. Versl. Kon. Acad. van Weten. Wis en Nat. Afd. Dl. 29. 390, van 25 Sept. 1920. Deel 29, 29 Jan., 1921.

H. Zwaardemaker en T. P. Feenstra. Substitution du Potassium par l' Emanation de Radium dans le liquide de Sidney Ringer. C-R. Soc. de Biol. T. 84, p. 377, 1921.

CALCIUM AND MYOGENIC HEART-PROPERTIES

BY

A. v. D. WILLIGEN.

(Abstract of his Thesis. Utrecht April 29th. 1924.)

I. Of the various properties displayed by the heart. I propose to examine the influence of Ca on the frequency, ventricle-electrogram, height of contraction of the heart-point and the actual reaction of the heart, while in a following thesis STEYNS will examine the influence of this element on the power of the heart.

§ 1. The influence of Ca on the Frequency.

I used frogs' hearts; the animal was killed in the usual way, and the heart laid bare. A small cut was given in the sinus venosus and the septum atriorium was destroyed through this opening with a fine pair of scissors. A KRONECKER cannula was inserted into the opening and pushed into the ventricle, a ligature at the height of the atrioventricular line securing it. Subsequently the heart was removed from the body. The perfusing fluid was RINGER without Ca or radioactive salt, these two constituents being added as they were needed. The H-ion concentration of this fluid varied between $p_H = 7$ and $p_H = 8$ which was constantly controlled by means of neutral-red and diminished by addition of Sodium-carbonate. The perfusing system consisted of the usual three Mariotte bottles which could, in turn, be connected with the KRONECKER cannula; the pressure under which the fluid reached the heart was always approximately 6 cM. of water. The temperature we kept constant by submerging the end of the tube, shaped spirally before reaching the heart, in a bath formed by gently running water from the town supply.

The contractions were registered by means of the suspension method, the lever writing on a drum. We always began the experiments by finding the potassium dose at which the heart pulsated regularly. When the heart had been beating regularly for half-an-hour on a certain dose the experiments were begun.

First we saw what happened with the frequency when changing from Ca-containing to Ca-free fluid with different K. doses.

The change in frequency during this transition is not always the same; generally a decrease in frequency appears, an increase is only seen in very few cases with a low potassium-dose. (For Table 1 see Thesis page 14).

Subsequently the same experiments were done with an equi-radioactivive quantity of uranylnitrate. This was far more difficult as it is not possible to vary the doses of uranylnitrate as freely as KCL, as it is very toxic in higher doses, and tonus shows itself at an earlier period than with the KCL.

TABLE 2. Transition from Ca-RINGER to Ca-free fluid with uranylnitrate.

Date	Quantity of ur. salt	Ca Cl_2 250 mgr.	Ca-free fluid	Date	Ur. salt	100 Ca Cl_2	Ca-free fluid
17 Aug.	5	23-20	20-19	18 Aug.	10	12-13	13-12-10
„	10	16-15	14	„	20	16-13	9-8
„	15	13	10		25	18-19	16
„					30	13-12	12-13-14
					30	12-12	8-7-8

Here a decrease in frequency also showed itself, and a distinct optimum zone for the Ca action could be observed. After this the frequency was determined with a constant K-content and varying Ca-doses. We started with a Ca-dose with which the contractions were just regular; every 5 minutes the Ca-content was raised. The results may be seen in table 3 which has not been published here for lack of space. (For Table 3 see Thesis p. 15).

We may see from these figures that a zone of Ca-contents exists in which the frequency is highest. Above and below this zone the frequency constantly decreases; here we may speak of an optimum zone of Ca-action. This zone is rather broad at a certain K-dose. If the Ca-content becomes too high group-formation appears. In other experiments this disturbance can often be removed by giving a higher potassium dose. Sometimes group-formation is seen at a low Ca-dose. The optimum zone of Ca-action shifts with the potassium-content, for instance the optimum of a heart was found between 200 and 450 mgr. of $CaCl_2$ with 200 mgr. of KCl, while the same

heart afterwards perfused with 400 mgr. of KCl showed an optimum between 450 mgr. and 750 mgr. of $CaCl_2$ per L.

Date		25	50	75	100	125	150	175	200	225	250	275	300	325	3
21 Aug.	1 mgr. of ion				7		14		14		13		7	to	nu
18 Oct.	1 mgr. of ur. nitr.	13	16	13	19		14								
19 Oct.	6 mgr. of ur. nitr.			17		17	18		18		14		13		

§ 2. The significance of Ca for the ventricle electrogram.

The first experiments concerning the electrogram in connection with the Ca content were done by LOCKE and ROSENHEIM, who worked with rabbits' hearts. They saw that a heart which had apparently ceased to beat on a Ca-free fluid still showed a distinct action current, which they could follow by means of the capillary electrometer.

Later on many more experiments were done on this subject with the aid of the string galvanometer, and Mines was the first to determine the influence of lack of calcium on the electrocardiogram and found the same phenomenon his predecessors had described. JOLLES repeated MINES' experiments; he drew attention to the fact that while the contractions decrease in height very rapidly on perfusing with Ca-free fluid, the electrocardiogram continues almost unchanged at first. Gradually we may see a lengthening of the distance between the P- and R-top, and a decrease in height of all the deviations; the T-top often became negative. These researches coincided with those published by FAYOD, NOYONS, DE MEYER and HOFMANN, but were contradicted by EINTHOVEN. HUGENHOLTZ and ARBEITER, who claimed that the mechanical and electrical phenomena were dependant on one another. ARBEITER was able, through a finer technic, to demonstrate that where the other authors had believed the mechanogram to be absent this was only apparently so, as the friction of the lever on the sooted drum prevented the minute contractions from making themselves visible. He found that for powerful contractions Ca was absolutely necessary, but

that the minute contractions continued for some time, even after perfusion with Ca-free RINGER had taken place for days. It is important to known whether the radiophysiological laws still consist for a heart which apparently shows no contractions. To that purpose I performed various experiments from Jan. — Nov. 1922.

The frogs' hearts were suspended and perfused as already described. The mechanogram was registered by means of a serrefine attached to the heart-point, which moved a lever which, in its turn, cast a shadow on the sensitized paper, on which, at the same time, the electrocardiogram of the ventricle was registered. This was done by means of a small Edelmann string-galvanometer with permanent magnet. The galvanometer was placed on an optical bench which rested on a stone table cemented, at a right angle, to the wall. Nearest to the wall was a small arc-lamp of 4—5 Amp. The light first passed through 2 lenses, then a filter of picric acid solution, passed the string-galvanometer, and subsequently through a microscope with a Zeiss objective A and a projection ocular, after which it fell on the registering apparatus. This consisted of a clock-work which moved the sensitive bromide paper at a regular speed along a narrow cleft. In the little cupboard in which this apparatus was fixed a horizontally placed cylinder lens concentrated the light still further. The paper was rolled up in a small dark cupboard where it could be cut off for developing. The distance from the cleft to the string-galvanometer was I M. The current was conducted from the heart by two electrodes placed on the point and on the base of the heart. I generally used the unpolarizable electrodes of Noyons, sometimes more simple kinds. The resistance of the string was 10.000 Ohms. The time was registered by means of an electric time signal of 0,5 sec. In this manner electrocardiogram, mechanogram and time were registered with the smallest possible delay. We needed approximately 10—400 mgr. of KCL per L. to make a heart beat regularly for at least 20 minutes, and 125—225 mgr. of $CaCl_2$. After the heart had come to a standstill in diastole, resulting from Ca-free perfusion, I examined the electrogram at different intervals to see the changes which had taken place.

The following changes had taken place: The R-top remains the same in height but becomes broader in several instances, which would point to a slower conduction of the stimulus in the muscle, just as the lengthening of the distance between the P-and R-tops, which Jolles found. The T-top is considerably lower, the braedth

of the top is smaller, the direction remains unchanged; the duration of the whole phenomenon is shorter.

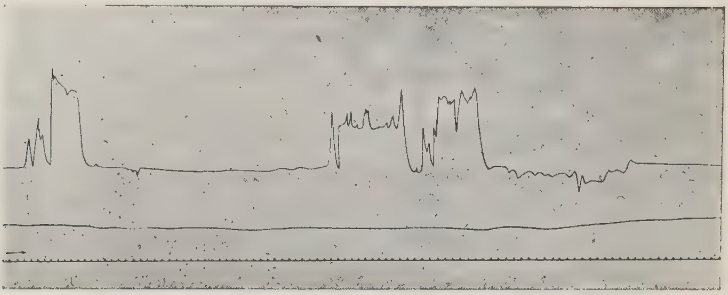


Fig. 1. (a. electrocardiogram b. mechanogram c. 0,5 sec.)

The automatism disappeared after perfusion for one and three quarter hours with Ca-free fluid; first a few stormy electric shocks had been seen, which did not resemble the ordinary electro-cardiogram.

The heart was perfused with Ringer fluid containing 100 mgr. of KCl. per L. The heart showed regular beats during ± 30 minutes, we therefore began to register the electrocardiogram. 1st photo: during transition to Ca-free Ringer. Photo 2: after 20 minutes perfusion with Ca-free fluid the mechanical contractions have become smaller, an electrocardiogram is clearly visible. Photo 3 mechanical standstill 35 minutes later, electro-cardiogram has disappeared, it is not clear what the cause is of this standstill. After a standstill of 1 minute the heart begins to beat again spontaneously (small contractions.) Photo 4. 45 minutes later the contractions of the heart are nearly invisible, the electrocardiogram is still clearly to be seen. One and three quarter hours later I suddenly saw rather violent movements in the string, and immediately started to photograph them. Photo 5 a few stormy electrical shocks; the heart is, visibly, motionless. After this both mechanical and electrical phenomenon have come to a standstill. A change to Ca-Ringer brought no revival. The large electrical shocks registered here are evidently phenomena such as those Jolles described for a heart which had been exposed to changes of temperature. He calls it the electrical death agony of the heart.

The results I obtained cannot be compared with those Arbeiter found. This author obtained, on purpose very simple electrograms by destroying a part of the heart-point, so that often a monophasic current appeared, which lasted for half an hour.

I also did several experiments to determine the influence of alpha-radiators on the electrocardiogram when Ca was removed, for instance uranylnitrate and ioniumthoriumhydroxyde; in quantities already determined by Feenstra Slooff and Levend.

I found that the hearts stood still in diastole, just as with the beta-radiators, and could not be made to contract by a mechanical stimulus.

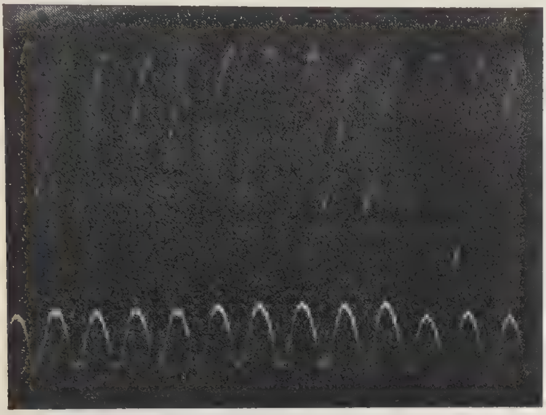


Fig. 2a.

Heart perfused with Ringer solution containing 40 mgr. of Thoriumnitrate. Read from right to left: lower line mechanogram; upper line electrogram.

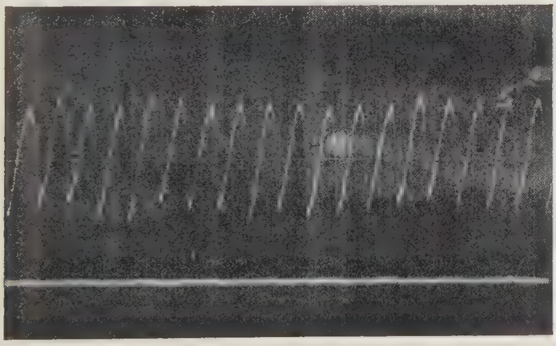


Fig. 2b.

The same after 5 minutes perfusion with calcium-free Ringer solution.

The changes in the electrocardiogram consist of a decrease in height and breadth of the T-top. R also decreases in height, but remains equally broad. The duration of the electrical phenomenon is smaller. (table 7 of my thesis.) Twice I was able to register a

paradox I in the electrogram of hearts which were standing stil on a Ca-free. fluid.

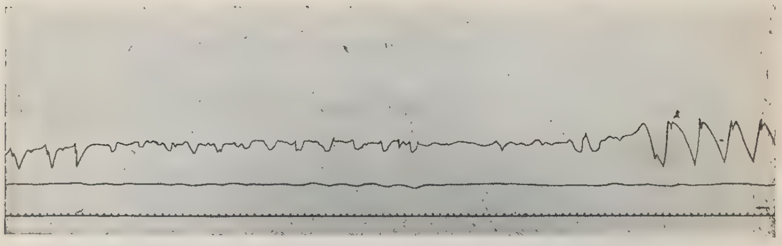


Fig. 3.

upper line = electrocardiogram.
centre line = mechanogram.
lower line = time signal 0,5 sec.

A heart is beating on Ringer solution with 40 mgr. of thoriumnitrate per L. After 30 minutes of regular pulsation Ca-free Ringer is substituted; 4 minutes later mechanical standstill. Now Ca-free solution with 600 mgr. of KCl per L. is turned on; an electrical standstill appears immediately. Mechanical standstill continues. The electrical standstill lasts for $^1/_2$ a minute, after which small contractions appear which at once show a character totally different to the original diphasic electro-cardiogram obtained with thoriumnitrate. An R and a T top are now clearly visible. The small excursions of the string gradually become larger, so that ± I minute later a good electrocardiogram is visible.

The first time the paradox appeared when changing from a fluid with 40 mgr. of Thoriumnitrate per L. and no Ca to 600 mgr. of KCl p. L. An electrical standstill appeared immediately aud lasted approximately I minute, after which small contractions show themselves, having a totally different character to the original diphasic electrogram, produced by the thorium nitrate. A distinct R and T top were present. The small deviations of the string gradually became larger so that after approximately I minute a full-sized electrogram was visible. The second time the parodox appeared when changing from 15 mgr. of uranylnitrate per L. and no Ca to 200 mgr. of KCl.

§ 3. Calcium and the actual reaction of the Heart.

From the experiments of LOCKE and ROSENHEIM who determined the dextrose used during contraction of a rabbit's heart, when Ca and afterwards also K. had been removed from the fluid, we see that a heart without Ca uses approximately the same quantity of dextrose, curiously enough, whereas lack of K. diminishes the dextrose intake to 5—10 centigrams during 8—9 hours perfusion in a motionless heart, whereas a functioning heart uses 12—17 centigrams. They concluded from this that Ca was needed for the conversion

of chemical into mechanical energy, while potassium was necessary to produce chemical processes in connection with automatism.

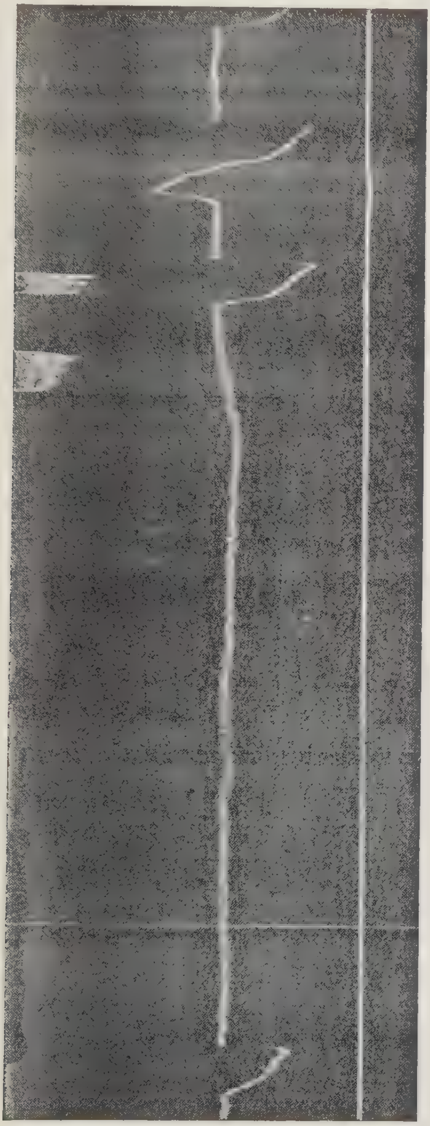


Fig. 4.

Transition from 15 mgr. of Uranylnitrate to 200 mgr. of KCL (Ca-free fluid).
upper line = electrogram.
lower line = mechanogram. To be read from right to left.

A standstill in the electrical phenomenon took place, lasting approximately 50 sec. followed by an electrogram which was interrupted by an interval of $^1/_2$ a minute's rest, after which the electrogram continued regularly, just as before changing to KCL.

This coincides with the modern opinion that the contraction of a muscle consists of two separate, mutually independant processes:

1. the chemical development of tension-energy.
2. the conversion of this energy into mechanical action.

This second function would be the one for which Ca. was needed.

De Burgh Daly and Clark examined the reaction of the heart brought to a standstill through lack of Ca. They believed that the acids would accumulate in the heart as the fluid was not renewed. They actually showed too, with the help of indicators, that the fluid after perfusion through such a motionless heart attained a degree of acidity of P_H = 6—8 in 5 minutes. In my own experiments I determined the reaction of the heart itself. This was done in the following manner: to the fluid used for perfusion we added a small quantity of neutral-red, which has a yellow-orange tint when the reaction is alcaline. A fresh heart, perfused without neutral, red shows a yellow-white colouring if one uses this indicator; a certain quantity of it is retained in the cells, a vital colouring taking place. This colouring gives us an insight into the reaction of the heart itself, as the muscles become distinctly red. Hearts brought to a mechanical standstill through lack of Ca also show this red colouring. As the possibility existed that this reaction was due to carbonic acid in the heart we allowed oxygen to bubble through the fluid profusely. The colour of the muscle still remained red, even after the removal of Ca. We also found the same acid reaction in hearts perfused with alpha-radiators, such as uranium, thorium, ionium, and emanation.

§ 4. Calcium and height of Contractions.

Iu 1908 Schultz did experiments with a strip of heartmuscle, which he stimulated electrically, to see the influence of Ca. on the contractility. In Ca-free fluid the contractility was soon exhausted; on adding 49 mgr. of $CaCl_2$ p. L. the height of the contractions was doubled in 17 minutes. This continued until approximately 800-1000 mgr. p. L. were added, when an obstinate tonus made itself felt, which prevented all contraction.

I wished to repeat these experiments in a somewhat different manner, using the heart point only, in order to avoid any automatism, so that simple contractions were obtained by electric stimuli. As it had proved to be of the greatest importance that the fluid was plentifully renewed, I used a wide glass receptacle in which the heart was suspended. The fluid flowed into the glass on the underside and flowed away over the top edge. Round the inlet tube underneath the beaker was a cork through which a platina-wire hook had been

fixed as electrode and as point of attachment for the heart. A platina wire fixed to the heart-point itself, and also attaching the heart to the lever, served as the second electrode. The fluids I used were made with a constant potassium content.

The lever was attached to a secondary circuit of a Du Bois Reymond inductorium to which the other electrode was also connected. The current in the primary circuit was derived from an accumulator (2 Volts.) With the aid of a polyrheotoma-disc of ENGELMANN, rotated by clockwork, the current could be broken for a certain period. Every four minutes I gave 5 stimuli with intervals of 10 seconds, each stimulus lasting a very short time. In the primary circuit a signal for each stimulus had been inserted; the registrations were on a sooted drum. I began by surrounding the heart-point with a Ca. fluid, and determining the weakest stimulus which just gave a contraction; this distance of the coils was retained during the entire experiment. After this the Ca. content was diminished;

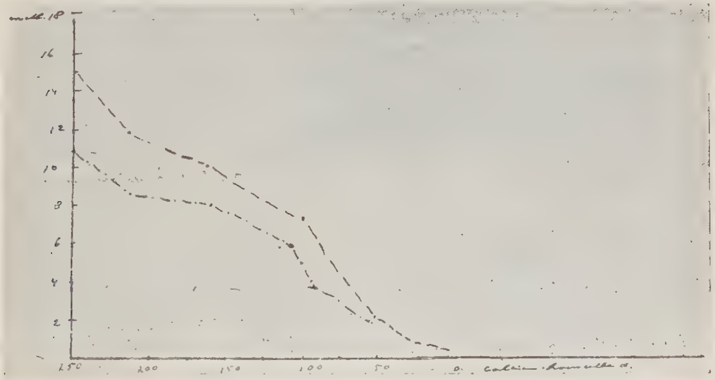


Fig. 5.
Height of the contractions of the Heart-point in mM; when decreasing t he Ca content.
----- 15 Nov. abscis: Calcium content in mgr.
-.-.-. 20 Nov. ordinate: Height in mM.

without exception the height of the contractions decreases with the Ca-dose. I also tried which substances could act as substitutes for Ca. in renewing the contractions after they had become minimal. Strontium was able to do so, 400 mgr. of $SrCl_2$ substituting 250 mgr. of $CaCL_2$. Barium, magnesium and beryllium appeared to be useless in this case. The irritability of the heart-point, however, did

not decrease after removal of the Ca, electric stimuli always producing a contraction.

Although a stimulus which is sufficiently strong produces a maximal contraction, we sometimes see a constant rise in height of the contractions at each stimulus (following eachother in swift succession) until a maximum is reached. This phenomenon (the stairs of Bowditch) appears when the stimuli follow eachother at a rythm of I stimulus every 4—5 seconds.

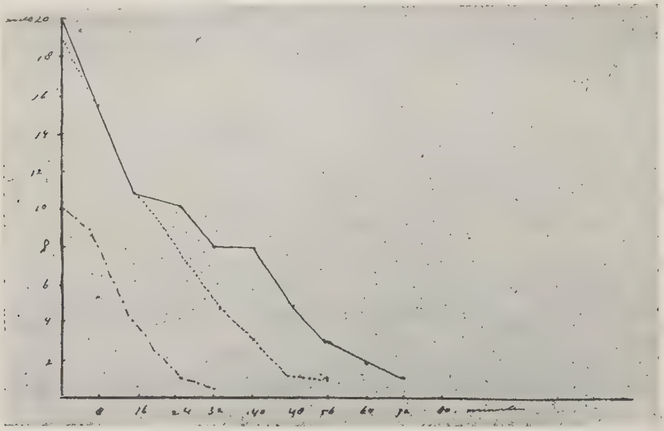


Fig. 6.

Height of contractions in mM after removal of Ca.
Abscis = number of minutes after the commencement of the Ca-free perfusion; ordinate = height in mM.
----- 27 Nov.
..... 14 Nov.
-.-.-. 10 Nov.

If a stair has once appeared during perfusion with Ca-free fluid it remains when the contractions have grown higher through addition of Ca.

In order to register the electrogram of the heart-point which was being electrically stimulated a large apparatus was needed, for immediately after each electrical stimulus the current of the string-galvanometer had to be opened. This was done by means of Bernstein's disc.

The heartpoint was fixed in a funnel, in the side of which a

small hook had been fixed, to which the heart-point was attached. The fluid entered at the botton of the funnel and escaped over the top edge. A platina wire connected the heart with the lever, both these electrodes being again connected with a DU BOIS—REYMOND inductorium. The primary circuit, derived from an accumulator of 2 volts was also led through the disc of BERNSTEIN.

The current for the galvanometer was conducted from the heart by two electrodes, one lying on the point of the heart. The current for the galvanometer had also to pass the disc, which was kept rotating by a Helmholtz motor.

The metal point of the disc which gave the contact for the stimulus was so fixed that immediately after the stimulus had been given the other metal points touched the mercury, so that the galvanometer was in action. When the two points were in the mercury the disc was held by an assistant until the electrical phenomenon was over; after which the disc was again rotated and a second observation could be made. A signal for the stimulation was let into the primary circuit, as well as several keys to make or break the various currents as I wished. The lamp, galvanometer and registration apparatus were arranged as already described.

After many difficulties I at last succeeded in obtaining fairly good results. I always began with the smallest stimulus which gave any results; at a certain stimulus the mechanical and electrical phenomenon appeared simultaneously and in equal strength, (all or nothing law;) if the stimulus was made much stronger tonus appeared preventing all visible contraction; such a heartpoint was useless for further experiment. In the electrogram an R and a T top were clearly visible; of R only a portion was evidently registered, however, as the galvanometer was connected immediately after the stimulus had passed.

Subsequently we determined whether the electrogram appeared in heart-points which had lost their contractility in Ca-free RINGER, the stimulus being kept at equal strength. It appeared that the electrogram still was visible even when the contractions are minimal, although the T-top decreases in height.

We could not compare the R top as it partially fell in the moment during which the electrograph circuit was broken. As the method we first followed to free the heart-point of Ca. took a long time, (simply surrounding the heart-point with Ca-free fluid), we adopted the following method. The heart was first perfused through the Kronecker cannula in the Ca-free fluid, after which the heart-point

was cut off; such a heart-point showed no visible contractions during stimulation, though a distinct electrogram could be obtained.

Fig. 7a.

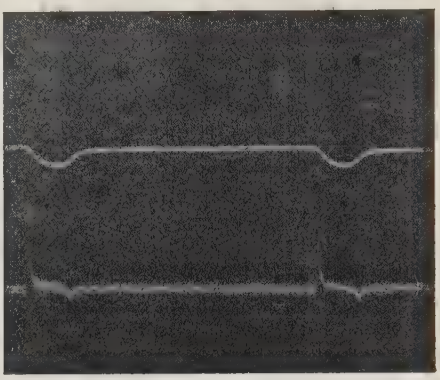


Fig. 7b.

Fig. 7a. Heart-vertex perfused with a Calcium solution.
lower line = machanogram.
upper line = electrogram.

Fig. 7b. Heart-vertex during 1/2 an hour's perfusion with Ca-free fluid.

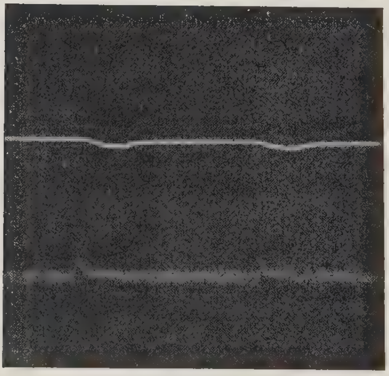


Fig. 7c.
After the perfusion with Ca-free fluid had lasted for 1 hour 10 minutes.

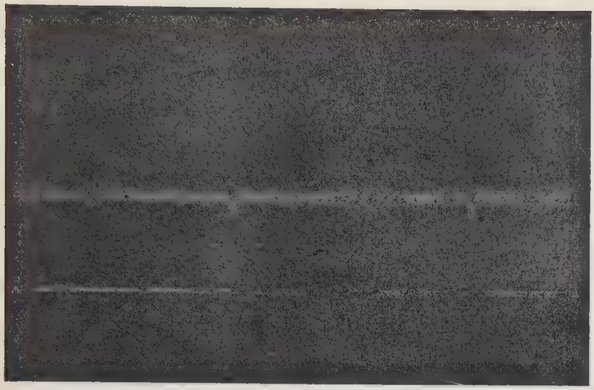


Fig. 8.

Heart vertex perfused with Ca-free fluid. Read from right to left. Upper line = signal at moment of stimulus. centre line = electrocardiogram. lower line = mechanogram.

Results of the Experiments.

I. When changing from Ca-containing to Ca-free RINGER solution a decrease in the frequency of the pulsations generally appears.

II. The frequency of the pulsating ventricle is chiefly determined by the temperature and by the quantity of potassium. An influence of Ca. does exist however, but it is an indirect one.

III. It appears that a great difference exists between the individual demands for potassium in the different frogs' hearts; this is also the case with Ca, though in a lesser degree; it is more difficult to judge this demand, however, as one can be satisfied with different heights of contraction.

IV. Just as former workers had already stated, it appeared that a contraction of the entire ventricle was absolutely impossible when all Ca. was extracted, at least at $\pm$ 15^0 C.

V. During alpha-automatism these complete contractions also soon cease when all Ca. is removed, at $\pm$ 15^0 C.

VI. The electrocardiogram first continues when the ventricle has been brought to a mechanical standstill by removing the Ca- from the pot: chloride RINGER. In this electrocardiogram the R-top remains approximately the same in height; it increases in breadth. The T-top decreases proportional to the decrease of the mechano-

gram. The direction generally remains the same; the duration of the electric phenomenon is decreased, the equal rise and fall of the R-top and of the height of the contractions, as seen by Arbeiter, only appeared in a few cases.

VII. Ca rules the tonus, potàssium and rubidium act tonolytically, U. TH. and Io do not.

VIII. The findings of Slooff concerning the changes which take place in the electrocardiogram during the alpha automatism were confirmed. The electrocardiogram finally becomes simpler in form. After some time a simple, diphasic current appears.

IX. Also in the hearts perfused with alpha-radiators the electrocardiogram was clearly visible in the ventricles which had come to a standstill through lack of Ca. The changes during Ca-impoverishment consist in the T-top becoming lower, and the distance between the foot of R-and the top of T becoming smaller.

X. On changing from alpha- to beta.-automatism radiophysiological paradoxes often appear; on the other occasions no disturbance whatever is noticeable. In the cases in which the contractions of the entire muscle are absent through lack of calcium analogous paradoxes may be stated in the range of electrograms, during the transition from one fluid to another.

XI. When perfusing with a Calcium-free fluid the actual reaction of the heart remains acid.

XII. The positive inotropic action of calcium can be substituted by Sr, not by beryllium, magnesium and barium.

XIII. The intensity of the Ca- and Sr- action varies proportional with the concentration.

XIV. The stairs of Bowditch were seen in the heartpoint with all sorts of Ca-dosages.

XV. The isolated heartpoint gives an electrogram on contracting with a distinct R- and T-top.

XVI. During electric stimulation of the heartpoint the electrical and mechanical phenomena appear simultaneously and to their full extent at a certain degree of stimulation. Intensification of the stimulus has no influence either on the height of the contraction or on the electrogram (all-or-nothing-law).

XVII. In a heartpoint surrounded by Ca-free fluid the mechanical contraction becomes minimal while the electrogram is still visible. The all-or-nothing law also consists for this last phenomenon.

Summary.

The inflluence of Ca on the automatism is very slight, as is proved by the presence of an electro-cardiogram, even when all the Ca has been removed from the perfusing fluid and the pulsations have, to all appearances, stopped. Another proof of this is the fact discovered by Noyons and Bouckaert that slow, regular pulsations are possible at O^0 C. without the presence of Ca: in the fluid: Ca has a slight influence on the frequency.

With a low and also with a high Ca-dose the formation of groups was sometimes seen, which groups disappeared by raising, respectively lowering the dose.

In the electrocardiogram the influence of Ca. is especially visible in the T. top which rises in proportion to the Ca content, even when the mechanical contractions are no more visible to the unarmed eye.

The influence of Ca on the conductivity is very slight; a very small influence however, does take place, visible in the electrocardiogram. The R-top becomes broader and the interval between the P and R somewhat larger. On diminishing the Ca content, therefore, a slower conduction of the electric negativity in the fibres of His and in the massive heart-muscle is called forth.

The actual irritability of the heartmuscle (sensibility of the heartmuscle which is not beating spontaneously) at first remains the same after removing Ca. from the perfusing fluid. According to Noyons Ca has no influence on the excitability (sensibility of the heart muscle which is pulsating spontaneously).

To judge the irritability one must make use of the electrical phenomenon when removing Ca from the fluid, for the contractions are often minute though a distinct electrocardiogram is visible.

Ca exerts a great influence on the height of the contractions. I found that on giving electric stimuli to the heartpoint after decreasing the Ca- content of the fluid the height of contractions became lower in proportion to the decrease in Ca. As all cells of the heartpoint are stimulated together when electric stimuli are used, the conductivity plays no part; the height of the contractions can therefore be studied best by an electrical stimulation of this portion of the heart.

When electrically stimulating the heart-point after having suddenly decreased the Ca in the surrounding fluid from 250 mgr. to o, the height of the contractions diminished gradually, more than an hour sometimes passing before the contractions had become minimal; this is entirely opposite to the acute cessation of all contraction

we see when the perfusing solution is substituted by a calcium-free fluid in a pulsating ventricle.

Removal of Ca from the perfusing fluid always caused the disappearance of the plastic tonus, both with hearts which had been perfused with potassium fluid and with those which had been treated with an apha radiator in the fluid. Potassium counteracts the stimulating action of Ca. on the tonus; uranium, thorium and ionium do not.

Conclusions.

Ca appears to exert a very slight influence on the automatism of a frog's heart.

It exerts no influence on the conductivity and irritability, while a great influence is visible on the height of the contractions and on the tonus, plastic as well as elastic.

Literature.

W. C. Arbeiter Arch. néerl. de Physiol T. V. p. 185. 192 I.
W. Biedermann Electrophysiologie. 1895. p. 315.
W. Biedermann. Sitzungs bericht der Wiener Academie LXXXII III Abt. 1880.
P. Bottazzi. Journ. of Physiol. Vol. 21. 1897.
W. Burridge. Journ of Physiol. Vol. 55 p. II, 114. 1921.
J. Bouekaert en A. Noyons Arch. intern. de Physiol. Vol. 19. p. 162 182 1922.
J. de Burgh Daly and A. J. Clark. Journ. of Physiol. Vol 54. p. 367. 1920—21.
S. de Boer. Arch. néerl de Physiol. T. 2. p. 352. 1918.
G. J. v. d. Bovenkamp Diss. Utrecht 1923.
Bowditch Berd. ges. Sächs. Ges. d. Wiss. math. phys. 1871.
R. Couzy en A. K. Noyons. Arch. internat. de Physiol. vol. XX 1922 '23.
A. J. Clark Journ. of Physiol. Vol. 54. p. 280 1920.
H. Detmar. Diss Utrecht. 1919.
W. Einthoven en F. Hugenholtz. Arch. néerl. de Physiol T. V. p. 174. 1921.
T. Engelmann. Onderz. Physiol. Lab. Utrecht 4e Reeks Dl. IV p. 1895.
Fano et Fayod. Archital. de Biol. T. 9. p. 143. 1888.
T. P. Feenstra Diss. Utrecht. 1921.
T. P. Feenstra Handelingen XXIIIe Nat en Geneesk: congres. 1922. p. 130.
Fröhlich Zeitsch. f. allgem. Physiol. 1905. Bdv. p. 288.
J. Gunzburg Arch. néerl. de Physiol. T II livre jubilaire de Pekelharing 1918.
J. Gunzburg Arch. néerl. de Physiol. T 4 p. 233. 1920.
W. H. Gaskell Journ. of Physiol. vol IV p. 43.
W. Gaskell Schaefers Textbook of Physiol. Vol 2 p. 169.
R. Höber Pflügers Arch Bd. 182. p. 104. 113. 1920.
P. Hofmann Zeitsch. f. Biol. Bd. 66. S. 316. 1915.
Aug. Hofmann Pfl. Arch. Bd. 133. p. 552. 1910.
K. T. A. Halbertsma Diss. Utrecht. 1922.

H. Hansen Zeitsch f. Biol. Bd. 73. p. 191, 204. 1921.
W. H. Jolles Diss Utrecht. 1917.
C. L. de Jong Diss Leiden. 1923.
E. H. Jannink Diss Utrecht. 1921.
J. Loeb Testschrift A. Tick. Braunschweig. 1899. p. 101.
„ Amer. journ. of Physiol. 3. p. 327. 383 1900.
„ Biochem. Zeitsch. Bd II p. 83. 1906.
„ Amer. Jonrn. of Physiol. Vol. 3. p. 383. 1900.
„ Bioch: Zeitsch. Bd 39. p. 194. 1912.
„ Bioch: Zeitsch. Bd. 36. p. 275. 1911.
F. S, Locke and Rosenheim Journ. of Physiol. Vol 36 p. 205. 1907.
A. Leontowitsch. Pfl: Arch. Bd. 147. p. 473. 1912.
W. H. Levend. Diss Utrecht.
Langendorff en Hueck. Pfl. arch. Bd 96. p. 473. 1903.
G. Mines Journ. of Physiol. vol. 46. p. 188. 1913.
Meyerhof Pfl. Arch. Bd. 188. 1921. p 114.
Möllendorff Ergeb. d. Physiol. 18er Jahrgang 1920. S 141.
J. de Meyer Arch. inter. de Physiol. 908. Vol I p. 257. 1910 Vol X p. 100.
C. R. Mines Journ. of Physiol. Vol 46. p. 188 1913.
M. Neuschlosz. Pfl: Arch. Bd 181, p. 17. 1920.
A. K. Noyons Diss Utrecht. 1908. Onderz. Physiol. Lab. Utrecht 5e R. X. p. 208, 1909; 5e R. XI. p. 1922, 1910.
A. Noyons Zeitsch. f. biol. Methodik u. Technik. Bd Ip. 265. 1908—09.
G. Pietrowski. Arch. f. exp. Path und Pharmacol. Bd 83. S 300 1920.
S. Ringer Journ. of Physiol. vol. 3p. 380. 1880—82.
„ „ „ „ vol. 4 p. 29, 1883.
„ „ „ „ vol. 4 p. 222, 1883.
„ „ „ „ vol. 5 p. 247, 1884.
Rutkeurtsch. Pfl. Arch. Bd. 129 S. 487, 1909.
H. de Raad Diss: Utrecht 1922.
W. E. Ringer Arch: néerl. de Physiol Livre jubilaire H. Zwaardemaker 17 p. 431. 1922.
Rona und Takahashi Bioch. Zt. Bd. 49. S. 370. 1913.
E. Starling and T. Knowhton. Journ. of Physiol. Vol. 44. p. 206, 1912.
C. D. Snijder Zeitsch. f. Allgem. Physiol. Bd. 14. S 263. 1912.
„ „ „ „ „ „ 15. S 72. 1913.
J. P. Slooff Diss: Utrecht 1922.
E. Smits Diss: Utrecht 1923.
W. H. Schultz Amer. Journ. of Physiol. Vol. 22. 1908. p. 133.
J. Voorstad Diss: Utrecht I (23.
F. Verzar und W. SZangi. Bioch. Zeitsch. Bd. 132. 1922 p. 53.
J. Zwaardemaker. Diss Utrecht. 1922.
H. Zwaardemaker ERG. de Physiol. Asher und Spiro Bd XIX. p. 327. 1921.
H. Zwaardemaker. Arch. int. de Physiol. vol XVIII. p. 282. 1921.
„ Journ. of Physiol Vol LV Nos I and 2. p. 33. 1921.
„ Versl. Kon. Akad. v. Wetensch. A'dam Zitting 23 Dec. 1921.
„ Pfl. arch. Bd 193. H. 3—4. 1922.
„ Versl. Kon. Akad. v. Weten. zitting 24 Juni 1922.
„ Klin. Wochensch. 1 Jahrg. No. 11p. 535. und No. 12. p. 594. 1922.

H. Zwaardemaker Journ. of Pharmac. and exp. Therapent Vol. XXI No. 2. 9 1923.

" Communication faite à l' occasion du 75 ième Anniversaire de la fondation de la Société de Biologie 1923.

" Le paradoxon radiophysiologique Arch. néerl. de Physiol. T. 5. p. 285 1921.

" De radioactieve evenwichten Ned. Tijdsch. van Geneesk. I p. 600 1921.

THE INFLUENCE OF CALCIUM ON THE POWER OF THE HEART

BY

M. J. E. M. STEYNS.

Abstract of his thesis. Utrecht, June 17th 1924.

---

§ 1.

It would be impossible in this abstract to give a full survey of all that has hitherto been published on the Ca-question; a short summary is sufficient to give some idea of the enormous variety of researches which have been done to bring more light on this subject. Let us divide the question into three separate ones:

1) Wat is the action of Calcium?

2) How does this action take place?

3) Can Ca be replaced by other elements?

The results of all the various experiments can generally be reduced to one of the following groups:

Sub. I. a) The power of Calcium to increase the tonus and the contractility.

b) The power of Calcium to vary the sensitivity, the conductivity and automatism of the heart.

c) The power of Ca to increase the density in colloidal systems, and in consequence to cause changes in the permeability.

(Haemolysis, fertilization of Fundulus and other eggs: amoeboid movements of leukocytes, etc.)

Sub. 2. The answers to this second question generally follow two directions: a colloid-chemical or a pure chemical one.

For further discussions see Thesis page 28.

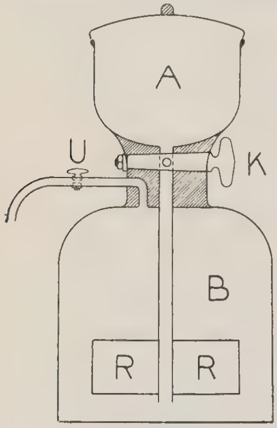
Sub. 3. The literature is very undecided about the substitution of Ca by other metals. Sr can, in most cases, be used in more or less the same instances, sometimes Ba and, in a few cases, Mg. Co, Mg, Ni and Pb have only been tested by a few workers, such as LOEB, who found that in his fertilization experiments they could be used instead of Ca without any further trouble; but in

general none of these metals can be used as an adequate substitute for Ca. It also appears possible from the experiments that oxygen can, to a very great extent supplant Ca (ABDERHALDEN and GELLHORN).

§ 2.

Emanation. We know from a former publication of ZWAARDEMAKER'S that a frog's heart is revived by perfusion with emanation fluid; that different doses have different effects; that the law of balancing ions does not consist for emanation; these facts were of great importance for my experiments, as by using emanation I was able to exclude the difficulties caused by the derangement of the balancing ions by Ca-removal, a pure Ca-action manifesting itself.

I used an emanatorium constructed in the manner shown in the sketch.



EMANATORIUM

At the bottom of B was a radium bougie (radium-barium-bromide). The receptacle B. was always filled out of A. with destilled water and left to itself for 24 hours at least; as only 300 c.c. were used at a time and the emanatorium contained full 2.5 L. the whole quantity of fluid was renewed in about a week. Prof. RINGER measured the quantity of radium dissolved in this water in his own laboratory. This was done in the following manner. About 100 c.c. of fluid was drawn from the emanatorium, by means of a tube running from U to almost the bottom of the measuring glass. Subsequently a pipet of 10 c.c. was filled from the lower layer of fluid in the glass and 10 c.c. from the bottom of the pipet brought into a flask containing a known quantity of destilled water. Of this water 1 c.c. was taken out and put into another flask, which was immediately closed down. To drive out all the emanation gas from the fluid we boiled the latter. The flask was closed by means of a doubly perforated cork (see fig. 2) and boiled for 10 minutes above an open flame. The water-vapour escapes through B and is condensed in C, while the emanation and the air present in the fluid can escape to D.

D. is entirely filled with a saturated NaCl solution in which

emanation does not dissolve and is connected with E. By varying

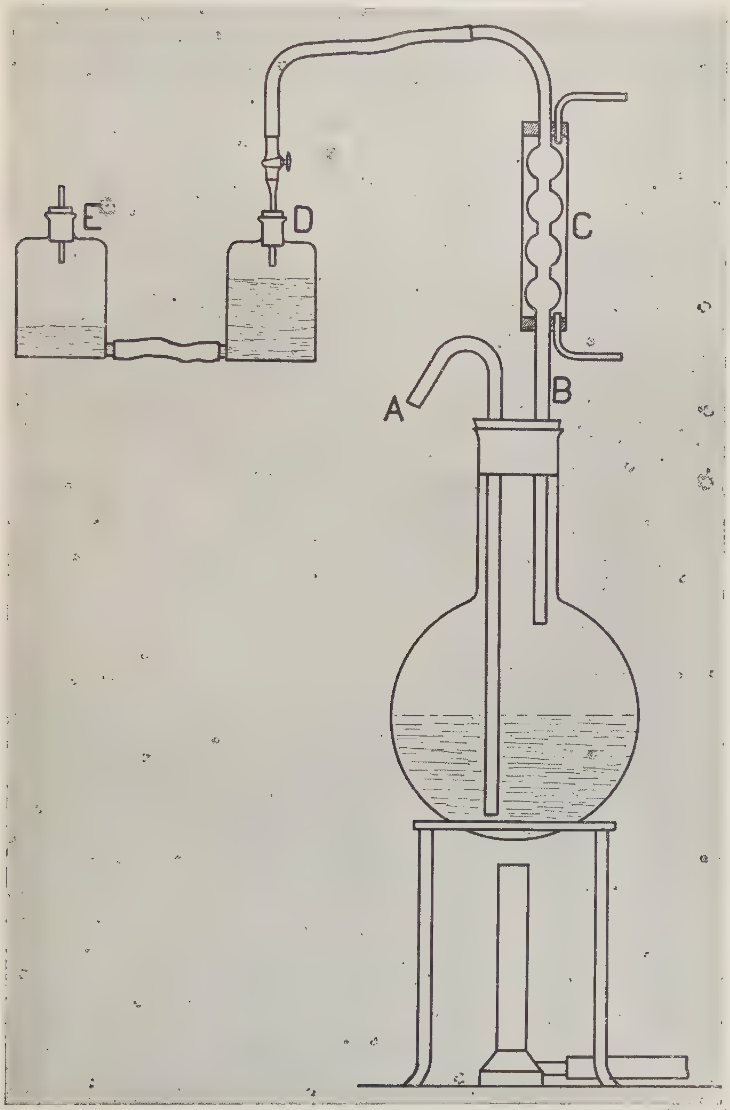


Fig. 2.

the height between D. and E. one can cause the pressure in D. to become negative. When the fluid has boiled for 10 min. the

flame is removed and by lowering E a negative pressure is formed in D so that air can flow through A and by bubbling through the fluid remove all remnants of emanation from the water. Now the cocks on D and E are closed; D. now contains all the emanation from the fluid above the surface of the NaCl solution.

To measure the radioactive power of this emanation we made use of a Dolezalek quadrant electrometer, which is built on the principle of the ionization of air (see thesis page 48). We had to wait three hours before the definite excursion of the needle could be read. In order to compare the figures we found with known values we first measured the emanation strength of a radium solution which had been made at least a month beforehand. It appeared that 9×10^{-7} mgr. of radium gave a deviation of 14 stripes. Calculated for the value we found for the emanation-water we find the following value for 1 c.c.

$\frac{90}{14} \times 9 \times 10^{-7}$ mgr. of Ra. = $6.43 \times 9 \times 10^{-7}$ mgr. of Ra.

57.87×10^{-7} mgr. of Ra. or 57.87×10^{-10} gr. of Ra. = 5.79×10^{-9} urie If, therefore, mention is made of an emanation solution $\frac{.75}{300}$ a solution is meant which contains.

$75 \times 5.79 \times 10^{-9}$ curies per 300 cM^3 of RINGER, or 1,4 microcuries per L.

Several other determinations were also done to ascertain firstly whether the emanatorium was able to produce at least 300 cc of an emanation solution daily, of an unvarying strength, and secondly whether emanation actually perfused the heart or whether it was lost through adsorption to the rubber or something of the sort. In the first instance we found that the portions varied but little, and in the second it appeared that this fluid possessed approximately the half of the radioactive power of the original fluid. This decrease might surprise us if we did not realize that considerable time elapses before the fluid has passed the heart and has fallen drop by drop into the flask, and still more before the radioactive power could be tested, as these determinations were done outside the general laboratory in a separate building, to avoid contamination; we may therefore, I believe, safely consider that the quantity of emanation which perfuses the heart lies much nearer the original $75 \times 5,79 \times 10^{-9}$ curies than we would suppose from the determination of the fluid which has already passed the heart.

§ 3.

Mode of experimenting. I made use of the ventricles of Rana esculenta; the animals were killed by boring out the vertebral canal and brains with a needle. After laying the heart bare the pericard is opened, the ligament at the back of the heart cut through and the sinus brought to view. The sinus is cut open with a fine pair of scissors and the septum atriorum destroyed from this opening in order to prevent the cannula from getting stopped up. A KRONECKER cannula à double courant is brought into the heart through this opening, so that the cardial end just reaches into the ventricle, and is fixed by a ligature at the height of the ventricular sulcus. Great care was taken before beginning the experiment to test the cannula, tubes and heart, as no leakage can be allowed in such experiments for measuring the heart-power.

To prevent leakages in the heart, this organ must never be touched with pincers, but may only be taken between the fingers with a cloth, and must moreover not be fixed to the cannula with a tight ligature but with a loose one, the whole being secured with several coils of soft silk er twine. Moreover the cannula must be filled with fluid before being inserted as the air would accumulate in the heart and disturb the regular perfusion. If one chooses a suitable perfusion fluid, with sufficient oxygen and a regular, not too high pressure of the fluid such a heart can be used for hours. The perfusing fluids were placed in the usual 3 Mariotte bottles described in former abstracts, connected by *short* rubber tubes with thick walls to the KRONECKER cannula, so that each in turn could be used for perfusion (short and thick rubber tubes to prevent mistakes in measuring the heart power). Perfusion was never begun before the fluid in the different bottles was at an equal level, while the glass air-inlet tubes in the bottles were carefully kept at the same height.

Before using the salts they were tested as to their purity. The Ca. dose of the fluids was varied according to whether the frogs were summer or winter ones, but each part of my thesis was done with either the one or the other sort of frogs, as it was not possible to compare the various results otherwise.

I also first did many experiments with varying *potassium* as well as *Ca.* doses, to avoid any objections which might be made that the results I found depended upon a fault in the balance of the ions. It proved, however that the pure Ca. action could not

be examined in this manner as potassium was not only a radioactive element which kept up the heart-beats but which also displayed its tonolytic properties. I therefore ended by using radium emanation in the perfusion fluid as the means of ensuring the automatism: I could then vary the`Ca. dose without being disturbed, as there was now no potassium-calcium balance, and no tonolytic potassium influence. FEENSTRA had already shown formerly that in spite of a disturbed balance of the ions a heart could be revived with emanation almost immediately. He had made use of a small emanatorium from the Allgemeine Radium Act: Gesellschaft, which could contain 150 c.c. of fluid, but he put the RINGER solution itself into the emanatorium so that the radium preparation was in direct contact with the fluid. I used a much larger emanatorium, as described in chapter II, which had been formerly used for drinking-cures in cases of chronic rheumatism. etc. In spite of having been left to itself for so many years it proved still to be very active.

In order to avoid any mistake through possible chemical changes in the emanatorium caused by the RINGER solution I always filled it with destilled water, and only added the concentrated salt solutions later on. At first I encountered the same difficulties which my predecessors had met with, namely that the emanation gas escaped out of the Mariotte bottles, and many animals and hours of work were sacrificed before I arrived at the following simple solution of the problem. A Mariotte bottle is closed with a rubber stopper through which a rubber drain is fixed, which reaches almost to the bottom. Round the tube and the stopper a rubber condoma is bound and the stopper is fixed tightly into the bottle. If now te bottle is filled from the lower opening in a horizontal position the condoma will double up and practically take up no room in the bottle, while, on the other hand, when the bottle has been connected up with the perfusing system, the air can freely enter the condoma without coming in contact with the fluid in the bottle. In this manner the bottle can empty itself without losing any of the gas. The rubber condoma must entirely have lost its elasticity as otherwise the pressure in the bottle is not always at the same level; this was managed by leaving the condoma in an overstretched condition in water for a few days. By using this contrivance I was able to work with the emanation solution for several hours without noticing any change in the radioactivity. The emanation solution which had

passed the heart proved to contain more than the half of its original radioactive power. We may therefore take it for granted that the fluid which passed the heart itself contained practically the quantity present in the fluid. A drawback of this contrivance is the impossibility of allowing oxygen to bubble through the water: this was remedied by half filling the bottle with a double concentration of the salt solution, allowing oxygen to bubble through it and then adding the emanation solution. Care must be taken while filling the bottle with emanation solution to keep the mouth of the tube well under the surface of the water in order to avoid escape of the gas while filling. It is also of the greatest importance to remove every air-bubble, as I learned through dire experience that evidently even small bubbles of air are capable of holding a considerable quantity of emanation.

In order to measure the power of the heart we first made use of a U-tube connected to the outlet tube of the Kronecker cannula: it was filled with mercury and provided with a scale in m.M., so as to serve as a manometer; a stopcock was inserted in the outlet tube of the cannula. We acted in the following manner. After perfusing with a certain Ca-content for a considerable time the cock in the outlet tube is shut. We waited for a diastole of the heart and when this had reached its maximum the inlet tube was also closed. When the systole of the heart appears the fluid from the heart can only escape to the manometer; from the difference in height of the two columus of fluid in the U-tube the pressure can be read in mM. of mercury. It soon appeared that it was not possible to measure the power in this manner. The heart was always able to contract entirely, so that it was not the power but the difference in volume between diastole and systole which was read on the manometer.

To avoid this I first tried to make the diameter of the U-tube very narrow, so that the maximum pressure which the heart could exert was reached before it had quite emptied itself. This was useless however as the friction in the tube was too great and the measuring was uncertain through the capillary action. It was also very difficult to read the differences in pressure swiftly and accurately in the short moments of systole, while any registration other than the complicated photographic one was practically unfeasible.

It soon appeared necessary to desert this manner of measuring the power and to resort to a method which combined an easier

registration with an accurate measurement. We therefore made use of the apparatus shown in fig. 3.

This consisted of a small metal dish A covered at the top with thick rubber sheeting, in the centre of which a light aluminium lever was fixed by means of a drop of sealing wax. The metal dish and the tubes are entirely filled with fluid; any possible air bubbles may be the source of mistakes in the readings as they can be compressed. If we now first close the cock in the outlet-tube and then, when the diastole has reached its maximum, also the inlet tube, the heart will have to overcome the tension of the stretched rubber during its systole, and thus move the lever registering on a sooted drum. After a few experiments we succeeded in finding a rubber membrane of such thickness and tension that the heart was not capable, even by exerting all its power, of expelling its whole contents. This was what I desired. Now smaller or greater power of the heart-muscle could be registered easily, and, by gauging the instrument by means of centimeters of waterpressure, we could measure this power accurately.

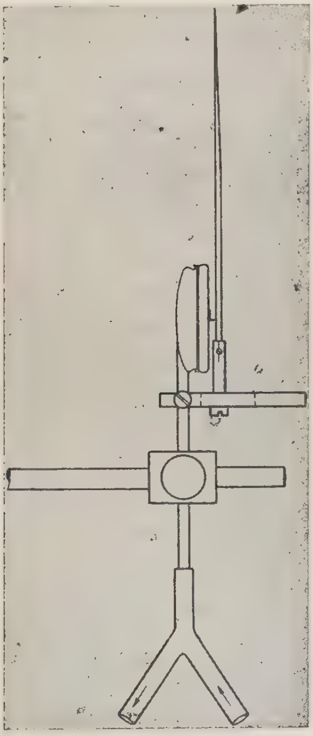


Fig. 3.

I worked in the following manner: I washed out a heart for several hours with a fluid containing the lowest Ca-dose which I intended to use for a certain heart, subsequently a registration was made on the drum in the manner described above, and afterwards the heart was perfused during 3 minutes with the following Ca doses. At each increasing dose I waited 3 minutes before registering the power, whereas while decreasing the dose it appeared necessary to wait at least 5 minutes. In the following chapter we will discuss this point more extensively.

When perfusing with emanation fluid care was taken to keep the vertical distance between the meniscus of the perfusing fluid

and the heart constantly equal, so that differences in the excursions of the lever caused by differences in pressure of the perfusing fluid were avoided. In order to avoid the difficulties of registration arising from a beating heart I made use of a heart-apex. A KRONECKER cannula covered, for this purpose, with very thin rubber tubing, is inserted into the ventricle right up to the apex; a ligature is fixed in the sulcus atrioventricularis and wound almost up to the cardinal opening of the cannula, so that only a very small portion of the apex which has lost its automatism remains outside the ligature.

We also measured the capability of stretching of the heart muscle for which we used the following apparatus.

In the tube leading from the bottle of perfusing fluid to the KRONECKER a T piece with a two-way stopper had been inserted; to the third arm of the T piece we had connected a long glass tube waith a scale division in cM. This tube was filled to a certain height with physiological water and served to give overpressure to the heart. The two-way stopper can either connect the perfusing fluid or the overpressure tube with the KRONECKER. The outlet tube is also supplied with a stopper. Round the heart we fixed a sort of oncometer filled with physiological solution. This oncometer is connected with a U-shaped tube, provided with a scale in mM. If the heart had been perfused for a considerable time with a certain Ca-concentration the outlet tube was shut off and the two-way stopper turned to the overpressure tube. Now the oscillations in the U-shaped tube showed the changes in volume of the heart-apex. We took great care to ascertain that the meniscus in the U-tube was just at the same height as the heart, in order to avoid a positive or negative pressure in the oncometer.

When it appeared necessary to register very small deviations of the meniscus we threw a parallel bundle of light-rays through the U-tube and projected the movements of the meniscus, 40 times enlarged, on to a screen. When using emanation great care was taken to thoroughly clean the bottles and tubes with diluted hydrochloric acid; as traces of emanation already give considerable differences in the Ca. dose.

§ 4.

In the winter of 1923 I came to the conclusion that increase of the Ca-dose increased the power of the heart. At first the

behaviour of the heart during a systole brought me to this conclusion. If a heart was perfused with a physiological salt solution containing bicarbonate of sodium and potassium, to which a small dose of 75 mgr. per L. of Ca. was added I noticed that, though the frequency remained practically the same, a sort of „indolent" systole made its appearance. The heart seemed to perform its work reluctantly and as soon as the systole was finished it more or less collapsed with a jerk. This same heart began to beat in an entirely different manner as soon as more Ca was added. The pulsations became abrupter and the systole was maintained for a considerable time; a fact which struck me was the appearance from time to time of a contraction ring, or something which resembled it, situated at $^2/_3$ of the ventricle from the sulcus atrioventricularis. When the diastole is on the point of passing into the systole this ring first begins to contract, after this the portion of the heart lying below this ring (towards the sulcus) and only finally the point of the heart. This happened regularly and made its appearance with each heart I used, so that I am of opinion that we have to do here with a physiological phenomenon. This contraction ring was the last portion of the heart which continued to contract when the rest had ceased to show any contractions (at least any visible to the naked eye. If we added neutral red to the perfusing fluid to determine the reaction and counteracted this with a trace of bicarbonate of sodium, one could see that the heart became a light red colour after a few pulsations, as a sign that an acid was liberated during the action, It was then always evident that the contraction ring showed up as a dark-red band against the lighter coloured surroundings in other words there the greatest amount of acid was produced.

When finally the Ca dose had been raised to 300 mgr. p. L. the systole was continued for a considerable time and sometimes I had the impression that the diastole had not entirely ceased when the new systole appeared. In every case measurement showed that the difference in volume of the heart in systole and in diastole was smaller than in the lower Ca. dose.

At first I began to measure the power when the heart had been beating on a certain Ca-dose for a few minutes. It appeared later that these results were not accurate; evidently the Ca. present in the heart-muscle adds its action to the Ca. in the perfusing fluid, or else lecithin or cholesterin which have not

been sufficiently washed out are the cause of the mistakes. Lieb and Loewi showed by different experiments that a heart in different concentrations of Ca.-fluid (0-110 mgr. per L.) always gives off the same quantity of Ca. to the surrounding fluid independant of the Ca-content of the fluid. We may see from the results I obtained that "unwashed" hearts always have a far greater initial power than those which had been washed first. (By "washed" I mean perfused for at least two hours with a fluid containing the minimum Ca. content for the heart in question.) I should like to divide the experimentsinto different groups; the first would comprise the influence of different Ca. doses on the heart with a constant potassium content of the fluid; the second the results when the Ca. dose is constant and the potassium dose varied. Subsequently as regards the research of the pure Ca. action, (using emanation-RINGER to assure the automatism,) we examined firstly varying Ca-doses with a constant quantity of emanation, and secondly the possible influence of varying doses of emanation on the power of the heart.

I. The influence of different Ca. doses on the power of the heart, with a constant potassium dose.

a. Ten hearts were examined with 100 mgr. of potassium per L. The results of the different measurements for each heart resemble one another so much that one may safely take the average. These will be found in the following table:

$CaCl_2$ dose in mgr. p. L. (potassium chloride 100)

Heart	75	150	300	
1	15	26	41	
2	15	31	34	
3	15	32	42	
4	16	32	39	
5	18	33	42	potassium chloride 100 mgr. p. L.
6	19	33	39	
7	19	33	42	
8	20	35	44	
9	20	31	42	
10	18	32	42	
average	18	32	41	
in mM of water:	144	256	328	

The power in this table is expressed in mM measured on the curve. To express this in cM of water-pressure it is sufficient to know that a deviation of one mM of the lever registrating the power equals 8 mM of water-pressure. (I gauged the instrument with a column of water in order to express the mM on the curve signifying the power in a known measurement.)

To show the great differences we obtained with hearts which had been insufficiently "washed" I will give the results of the 5 first hearts in this table before they had been "washed"

Heart	75 $CaCl_2$	150	300	
1	39	52	60	potassium 100 mgr. p. L.
2	38	52	55	
3	39	51	56	
4	41	53	59	
5	42	52	56	
average	40	52	57	
This in mM of water =	320	416	456	

b. Five hearts were examined with 200 mgr. of potassium chloride per L.

$CaCl_2$ doses in mgr. per L.	75	150	300	
Heart 1	12	31	39	200 mgr. of potassium chloride per L.
2	15	32	40	
3	22	30	34	
4	24	32	37	
5	25	34	39	
average in mM on the curve	20	32	38	
= „ in mM of water-pressure	160	256	304	

In this table the individual difference in power of the various hearts is very striking.

c. With 300 mgr. of potassium per L. 5 hearts were also examined with the following result:

Ca-doses in mgr. per L.	75	150	300	
1	10	21	33	
2	10	21	36	
3	13	27	38	300 mgr. of potassium chloride per L.
4	13	24	41	
5	20	35	40	
average in mM. on the curve	13	26	38	
This in mM. of water becomes	104	208	304	

d. With 400 mgr. of potassium chloride p. L. and varying Ca-doses; 14 hearts were examined. In this curve we clearly see the smaller power while using a low Ca-dose. Then the negative inotropic action of potassium makes itself felt, in proportion more strongly than with the higher Ca-doses, as we will see sub. II.

$CaCl_2$ dosis per L. in mgr.	75	150	300	
1	4	21	35	
2	4	17	36	
3	4	24	31	
4	4	22	32	
5	4(22)	22	35	
6	6	25	33	
7	8	29	44	400 potassium p. L.
8	9	29	51	
9	10	32	41	
10	10	36	41	
11	15	38	50	
12	16	35	44	
13	19	32	45	
14	25	40	48	
average in mM. on the curve	10	29	41	
In mM. of waterpressure	80	232	328	

II. In the second place we studied the values obtained when the Ca dose remained equal and only the potassium was varied. We examined 5 hearts each time.

a. Hearts perfused with 75 mgr. of $CaCl_2$ p. L. and a potassium dose varying between 100 and 400 mgr. p. L.

Potassium doses	100	200	300	400	
1	19	12	10	4	
2	19	15	10	4	
3	20	22	13	4	75 $CaCl_2$ p. L.
4	26	24	13	4	
5	23	25	20	4	
average in mM. on the curve	21	20	13	4	
This in mM. of water	168	160	104	32	

b. Five hearts were examined with 150 $CaCl_2$ in the fluid and a potassium dose varying from 100—400 mgr. p. L.

Potassium chloride in mgr. p. L.	100	200	300	400	
1	33	31	21	21	
2	33	32	21	17	
3	35	30	27	24	150 $CaCl_2$
4	31	33	35	22	
5	33	34	35	22	
average in mM. on the curve	33	32	28	21	
in mM. of water	264	256	224	168	

c. Five hearts with 300 mgr. of $CaCl_2$ p. L. and 100—400 KCl. p. L.

Potassium chloride in mgr. p. L.	100	200	300	400	
1	39	39	33	35	
2	42	40	36	36	
3	44	34	38	31	300 $CaCl_2$
4	42	37	41	32	
5	42	39	40	35	
average in mM. in the curve	42	38	38	32	
in mM. of water	336	304	304	264	

If we take the average figures of the 3 tables of II a, b, and c, and of these the two outer values we see:

for 75 $CaCl_2$	21	and	4	with	respectively 100 and 400 mgr. of KCl.
„ 150	„ 33	„	21	„	„	„ „ „ „ „ „
„ 300	„ 42	„	33	„	„	„ „ „ „ „ „

If we reduce these figures to the same initial value we obtain a ratio of 8 : 27 : 33.

This ratio shows, in inverse order, the influence of an increased potassium dose on the power of the heart with different Ca-doses so that with 75 mgr. of $CaCl_2$ p. L. this influence is approximately 4 times as great and with 150 $CaCl_2$ p. L. approximately 3 times stronger than with the high dose of 300 mgr. per L.

In all the experiments in which potassium was used to preserve the automatism the results, though all pointing in the same direction, were strongly influenced by the action of potassium itself, which made it difficult to use these results as absolute proofs. We therefore performed a long series of experiments, using radium-emanation to ensure the automatism.

Before commencing we had to find the most suitable dose of emanation which would maintain the automatism of the heart for a considerable time without injuring it, especially as the hearts had to be "washed" for at least two hours beforehand and often stopped beating during this time for lack of a radio-active element and had, therefore to be subjected to emanation-perfusion for a long period before the experiments commenced.

Feenstra had already published an article on the necessary dose of emanation, but as he had worked with another apparatus, and as his measurements were done in a different way to the one usually followed at this laboratory I started to find the dose experimentally. It appeared that on mixing 50—100 c.c. of destilled water containing emanation (from the above-mentioned emanatorium) with 300 c.c^5. of salt solution so that the whole is in physiological concentration the optimum dose for a good heart-action was reached. We also worked, however, with 35, 50 and 150 c.c. of emanation-Ringer.

According to Professor Ringer's determination, described in the chapter on emanation, this equals, per c.c., 5.79×10^{-9} curie. I found that with the above values of emanation 50 mgr. per L. was the maximum, 3.5 mgr. the minimum quantity of $CaCl_2$. which was needed. These figures form a contrast with those Feenstra found; we learned the reason of these differences later on. The influence of the season plays no part for I succeeded in using higher Ca. doses with the emanation out of the apparatus used

by FEENSTRA formerly. We also thought of the possibility that my emanatorium produced a substance which had the same action as Ca. and that therefore we could only use 50 $CaCl_2$ p. L. as a maximum dose. This also proved not to be the case, for if the fluid out of my emanatorium, after having been well shaken and having been left to stand for some time to rid it of the emanation, was placed in FEENSTRA'S emanatorium we were able to use the same high doses of Ca this author had described. The greater quantity of emanation and therefore its higher radioactive power exercised no influence on the power of the beart as we proved by various experiments. From the following tables it will appear that if the Ca doses are kept equal the power is not increased by stronger concentration of emanation. I always used 50 mgr. of $CaCl_2$ p. L. and varied the emanation-dose from 75—125 to every 300 RINGER solution (without potassium and Ca.)

	75/300 Eman.	100/300 Em.	125/300 Em.	
1	64	64	63	
2	60	58	62	
3	58	58	59	
4	55	55	55	
5	51	53	53	
6	44	44	42	
7	26	27	26	50 $CaCl_2$
8	26	26	26	
9	24	22	23	
10	22	22	26	
11	22	22	23	
12	18	18	19	
13	19	19	17	
14	17	16	17	
15	17	17	20	

This result is not only of importance because of the difference which exists between it and FEENSTRA'S experiments, but also because it disproves the argument that the emanation doses, which were steadily decreasing during my experiments (as a slight amount of escape is unavoidable), might probably cause a difference in the power displayed. I examined 10 hearts with emanation and varying calcium doses, doing many power-measurements with each heart, these measurements showed only slight differences so that the average values have been taken for the table. If I

used the highest calcium dose (50 mgr. p. L.) I was constantly troubled by the tonus of the heart which ended in a standstill. I therefore used 30 mgr. p. L. as a maximum dose and 7.5 as a minimum. The following reproduction shows a curve registered by the lever of the "power measurer." [1])

The following table shows the average results of the 10 hearts perfused with 75/300 emanation and varying Ca-doses.

	$CaCl_2$ 7.5 mgr.	15 mgr.	30 mgr. p. L.
1	60	78	110
2	48	70	105
3	48	72	104
4	40	60	91
5	35	54	70
6	33	54	78
7	32	56	84
8	26	60	86
9	26	58	81
10	24	52	80
average in mM. on the curve	37	61	90
id. in mM. of water	296	488	720

We here see a very striking regularity in the different hearts, though, of course, the absolute values are not the same for all of them. If we plot out these values in a graph we obtain a practically straight line which denotes the increase in power when the Ca-dose is doubled each time.

The remarkable part is that we cannot speak of an optimal quantity of Ca; the increase in power continues when the Ca-dose is raised until the heart ceases to beat through an overdose of Ca, instead of attaining its greatest power in the middle of the line and decreasing to either side of this point. This is another proof that the law of balancing ions does not apply here.

In this table and curve we therefore find the pure influence of

[1]) The difference between Feenstra's results and my own lies only in the difference in the strength of the emanation we used. Later on further mention of this question will be made; for this research it is sufficient to know that emanation acts in some respects in the same manner as Ca, f.i. it increases the „tonus". A standstill of the heart in tonus, therefore, will take place sooner with a large than with a small dose of emanation (the Ca-remaining equal).

Ca on the power of the heart, without the disturbance caused by the chemical action of other substances in the perfusing fluid. With a striking regularity the same values keep returning and we moreover see that the Ca-action is an immediate one. The fluid containing a higher Ca-dose has scarcely reached the heart when

Fig. 4

the increase in power manifests itself; this takes place so suddenly that we are almost forced to accept a surface-action of Ca.

It is also curious to remark that when the perfusion has continued for some time with a certain Ca-dose the power we measured in the beginning does not alter at all, or only very slightly.

In the summary I will try and explain the reasons why I tried to discover the influence of Ca on the "stretching" power of the heart-muscle; here I will only mention the results of this part of the research, as the mode of experimenting was described in a former chapter.

In order to avoid the disturbing pulsations I now made use of the heart-point only; this was perfused in the ordinary manner with potassium-free RINGER solution in which 75, 150 and 225 mgr. of $CaCl_2$ p. L., respectively, had been dissolved. After a perfusion of five minutes the heart was subjected to an over-

pressure of 40 cM. of water, and subsequently a reading was taken, in the manner formerly described, of the change in volume registered on the gauge-glass of an oncometer. Fig. 6 represents the values found for various hearts during several experiments. From this curve we see that an increase of Ca. is always accom-

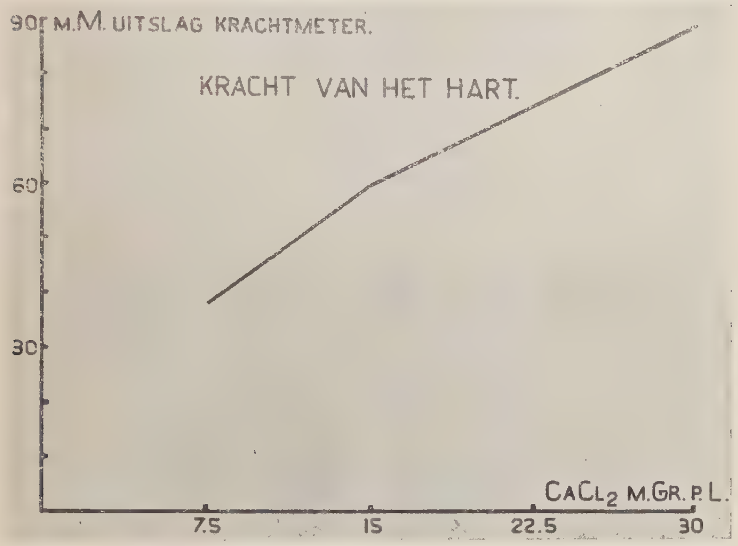


Fig. 5.

mM. uitslag krachtmeter = deviation of the lever for measuring the power in mM.
kracht van het hart = power of the heart.

panied by a decrease in the "stretching power" of the heart-muscle; and what is more, this change in "stretching power" always took place instantaneously.

With this same apparatus I also examined whether WEBER'S paradox also existed for the heart, in other words whether the heart-muscle was more liable to stretch during a contraction (systole) than during a diastole. As we only worked with a heart-point which excluded all automatism the stimulus to contract was given with a single induction spark. It must be remembered that only a blunt, flat electrode may rest on the heart as with a pointed instrument it is very easy to cause a leakage in the muscle, especially when it is exposed to an overpressure. As we had to deal with very small differences the meniscus of the fluid

in the gauge-glass was projected 40 times enlarged on a screen, by means of parallel rays of light. After having perfused a heart-point for some time with RINGER solution it was subjected to the overpressure of 40 cM. of water. The reading is taken of the scale on the screen; now the electric stimulus was given and a helper, who had no idea of what was to be expected, took another reading of the scale. It appeared that, with a single exception, it was possible to demonstrate WEBER'S paradox ad oculos.

It seemed also of interest to examine other factors which might influence the "stretching-power" of the heart-muscle. Noyons and Boukaert had already found that a heart perfused with a Ca-free fluid at O^0 C. continued to beat as regularly as if Ca. was present in the fluid at room-temperature.

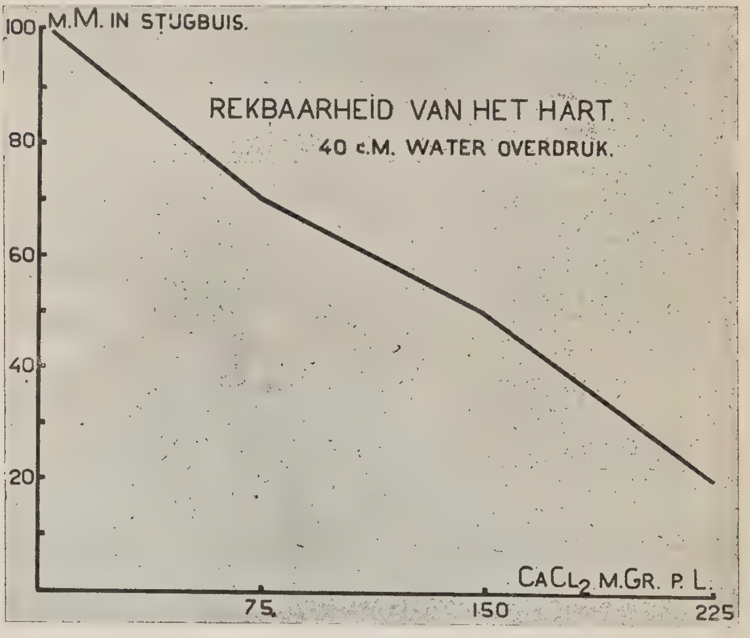


Fig. 6.

mM. in stijgbuis = height of water in gauge-glass in mM.
rekbaarheid van het hart = stretching-power of the heart.
40 cM. water overdruk = an overpressure of 40 cM. of water.

I concluded that such a heart would also be able to express its power in the manner hitherto discribed. The perfusing fluid

was cooled down to approximately 0^0 C by passing it through a glass spiral tube placed in salt and ice. It appearad that the power of the heart was approximately the same as with 40 $CaCl_2$ p. L. at 15^0 C. It is a curious fact that when a heart is beating on a glycose solution (as described by Noyons, 0.400 $NaHCO_3$ and 35 gr. of glycose p. L.) it develops the same power as a heart perfused with a Ca-free fluid at 0^0 C. It is not certain how this can be explained. Two opinions are possible. The one is that neither in the glycose solution nor in a Ca-free solution at 0^0 C. the Ca-salts are washed out of the heart tissue, so that the heart beats on its own Ca-store.

The other is that the low temperature and the said solution both exercise the same influence of a colloid chemical "hardening" on the heart-muscle.

The possibility of replacing Ca by other substances. According to different authors Ca can be replaced to a certain degree by Sr, Ba, Be, Mg.

I also tried the effect of these elements on the power of the heart but found that only Sr. was able to replace Ca. in its action on the power and only to a certain degree. Of the other elements af the series no influence on the power could be detected, either alone or with addition of a certain quantity of $CaCl_2$ In this latter instance the lever only pointed to a degree of power which would have been called forth by Ca-alone. If one added too large a dose of one of these elements symptoms of intoxication of the muscle soon appeared which rendered further experimenting impossible.

Summary

As we mentioned in § 1 up to now the positive action of Ca. on the inotropy was only measured by controlling the influence of different Ca-doses on the height of the contractions. I do not think this method is correct, for height of contractions only means the way covered and not the power displayed. It is evident that these two factors do not coincide, at any rate not in extreme cases; this is apparent from the fact that a heart which stands still in tonus through too much Ca. is not able to move a lever, (it is therefore impossible to measure the height of the contractions by means of a lever), and yet its power can be considerable. Below these extreme values of Ca one cannot measure the power accurately by means of the contraction-height, as two factors,

both dependent on the Ca. content, counteract each other.

These two factors are the tonic influence of Ca. and its action on the power. For if the latter increases through more Ca. the increase of tonus which appears simultaneously renders the heart incapable of using its power to increase the height of the contraction. This error caused by the tonus has hitherto not been taken into consideration. Energy is the product of the power and the contraction-height. Starling's research, therefore, does not give simply the power of the heart but the mechanical energy. I intended in this research to measure the first factor of the product Starling examined, with the isometric method described in Chap: III. By using emanation instead of potassium to insure the automatism, it was possible to avoid the tonolytic and, in large doses negative inotropic action of this latter element. I believe that with radium-emanation I have succeeded in registering the pure action of Ca on the heart-muscle, as emanation appears to possess no other than a radio-active action. Yet it might be possible that a research-worker using Starling's method obtained almost parallel results. The first factor of the equation: mechanical energy = force × distance, is influenced by Ca. just as the second. (see v.d. Willigen's thesis.) Ca influences the distance directly in moderate doses, in high doses indirectly by means of its tonic action and therefore in a contrary manner. Hence it is clear that Ca. can influence the mechanical energy without actually producing it. How must we explain this action of Ca. on the power, if it is not a source of energy?

Ca. could make it possible for power to develop itself by rendering the heart-muscle solid and sturdy in other words by decreasing the stretching capabilities of the muscles. We can imagine a heart-muscle to possess great possibilities of stretching without being able to convert the power into movement.

I therefore decided to measure the stretching capabilities of the heart with different Ca.-perfusions. And to my surprise the "stretchability" of the heart-muscle decreased almost absolutely in proportion to the increase of the Ca. dose. At any rate one of the factors which influences the action of Ca. on the heart has certainly been proved in this manner. I imagine the action to be somewhat the same as that of sulphur in the vulcanizing process of rubber, with this difference, however, that the Ca. action results in a temporary combination between cell and element, while in rubber this process has hitherto been found to be

irreversible. I have, so far, not been able to find another, more general explanation of the action of Ca.

Perhaps it would be possible through this small research to arrive a little nearer to an explanation of the fact that an electrocardiogram continues undisturbed for a long time in a heart which, to all appearances, is standing still, (through lack of Ca.) EINTHOVEN found some time ago that electrogram and mechanogram remained visible for an equal length of time if only the method of registering the mechanogram were fine enough. In order to explain this apparent contradiction I propose to divide the Ca-action in an influence on the power and another on the automatism. From my research it appears that the power gradually descends to O, if the Ca. dose is constantly decreased. It has then come to the condition of the heart we described above, in which it possesses many possibilities, but in which, to all appearances, the heart is absolutely motionless in consequence of a lack of "connecting links" between these possibilities and an incapability of making them visible to the casual observer. At this moment the mechanogram will apparently be absent while the electrocardiogram will continue undisturbed. It will only be when the heart has actually lost its automatism that the electrocardiogram will also vanish. This appeared to me a reasonable explanation of the differences between EINTHOVEN's opinion and others.

CONCLUSIONS.

1. Calcium is necessary in the perfusing fluid, among other things, to enable the heart to exert power.

2. The power of the heart increases practically parallel to the increase of the Ca. dose in the perfusing fluid.

3. The increase in power makes its appearance at the moment the fluid containing more calcicum reaches the heart.

4. The increase in power continues as long as the Ca. dose is raised until the automatism ceases, and vice versa.

5. The capability of the heart to stretch decreases in the same proportion as the calcium dose of the perfusing fluid increases.

6. This decrease in stretching capability is certainly one of the factors which renders it possible for the heart to exert more power.

7. The accurate measurement of the heart-power can only be done by substituting the potassium in the Ringer solution by radium-emanation.

8) In the series Be, Mg, Ca, Sr, Ba, it is only Sr. which can, to a certain degree, serve as a substitute for Ca. in the sense described above.

For list of literature see Thesis.